

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

KÁTIA CRISTINA BORITZA

**1,5 Anidroglucitol e Controle Glicêmico em Pacientes com
Diabetes mellitus tipo 1, tipo 2 e Gestacional**

CURITIBA

2012

KÁTIA CRISTINA BORITZA

**1,5 Anidroglucitol e Controle Glicêmico em Pacientes com
Diabetes mellitus tipo 1, tipo 2 e Gestacional**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a Dr^a Fabiane Gomes de M. Rego
Coorientador: Prof Dr Geraldo Picheth

CURITIBA

2012

***Dedico este trabalho à grande
motivação da minha vida, minha filha,
Maria Eduarda.***

AGRADECIMENTOS

À Deus, que me deu força e coragem para chegar até aqui. Agradeço por cada dia, tenha sido ele bom ou ruim, pois tudo fez parte do aprendizado e da experiência nesta vida. Só o Senhor sabe o que é melhor para nós!

À minha orientadora, prof^a Dr^a Fabiane Gomes de Moraes Rego, pela atenção, paciência, ensinamentos. Pelas longas conversas e grandes conselhos nos momentos mais difíceis.

Ao meu orientador, prof Dr Geraldo Picheth. Sem você não estaríamos aqui neste momento. Obrigada por ter me aceitado sob sua tutela, por sua paciência e por compartilhar suas experiências, elas tornaram este trabalho melhor.

Vocês dois são certamente uma equipe muito unida, o que faz com que nós, seus pupilos, tenhamos muito prazer em sermos aceitos e trabalhar neste grupo. Não só pelos momentos de descontração, pelas amizades formadas, mas principalmente pelo elevado grau de conhecimento compartilhado.

Ao Dr. Hirotaka Ishibashi, do grupo Glycomark Inc., por nos ceder os kits para que as dosagens do 1,5 Anidroglicitol fossem viabilizadas.

Ao Dr. Luiz André Hoffmann Zampieri, da empresa Abbott Diagnóstica, pela parceria nas dosagens dos parâmetros bioquímicos.

À Dra. Rosângela Roginski Réa, assim como à equipe do Biobanco – do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas e da Seção de Coleta da Unidade de Apoio Diagnóstico, pela parceria na coleta das amostras.

Aos amigos e colegas do Hospital de Clínicas. Em especial à Dra Mônica Evelise Silveira, pelo incentivo, pela oportunidade e pelo apoio. À equipe do laboratório de Imunoquímica, do Hospital de Clínicas: aos amigos, pelo apoio em todos os momentos desta etapa. Aos colegas pelo apoio profissional nas minhas ausências.

Ao Dr. Alisson Fernandes dos Santos e Aline Gonçalves dos Santos; Regina de Fátima Menon; e Dr^a Niza Helena Andrade, amigos queridos e grandes incentivadores para que este caminho fosse trilhado.

Agradeço também aos meus colegas de mestrado, que fazem parte desta equipe maravilhosa: Izabella C. dos Santos Weiss, Mauren Isfer A. Oliveira, Waldemar Volanski, Daniela Tapety, Sandra F. de Melo, Ademir do Prado, Henrique Frigeri, Samia Talise , Petra van den Bogert, Karla Schoen e Priscila A. Arakaki.

Agradecimentos especiais às amigas Izabella Castilhos dos Santos Weiss, Daniela Tapety e Mauren Isfer A. Oliveira e ao Waldemar Volanski. Todos vocês levam uma parcela dessa vitória. Ao colega e amigo Ademir do Prado, pela ajuda e apoio na obtenção dos dados informatizados do sistema SIH.

Às amizades adquiridas neste mestrado que levaremos para a vida: Bárbara Moriel e Caroline Reis Matsubara, e você também Juliane Castoldi... obrigada pela força nos momentos de dificuldade, e por simplesmente estarem ao meu lado..

A todos os meus amigos de longa data, em especial os compadres Alessandra e Sandro de Araujo, anteriores a esta etapa da minha vida e que permanecerão após ela: estou voltando...

A todos os meus familiares, que me suportaram nesse período, ou que aceitaram minha ausência, sempre justificada pela falta de tempo, ou pela necessidade de dedicação ao estudo. Vocês também são responsáveis por esta conquista.

Agradecimento à Rosa Comini Martins e família pelo apoio incondicional.

Agradecimentos especiais aos meus pais, Albino Boritza e Arlete de Aguiar Boritza, talvez não saibam, mas são o maior exemplo de sucesso que tenho, pois nos trouxeram até aqui, sempre ao nosso lado, não é mesmo queridos irmãos Wagner Luis Boritza e Sandra Boritza? Obrigada à vocês também!

Também ao “pequeno príncipe” Pedro Lucas, pela ausência da “Dinda”.

Finalmente, dedico TODO o fruto desse trabalho à grande razão da minha vida, minha filha Maria Eduarda. Perdoe a mamãe pelas ausências, pelas saídas, por não dar a atenção que você merecia nesse período. Foi tudo pensando no seu futuro e em um futuro melhor para nossa família. Espero que quando crescer você leia e me compreenda, EU AMO MUITO VOCÊ... do tamanho do céu minha querida!

EPÍGRAFE

*Não é o mais forte que sobrevive.
Nem o mais inteligente.
Mas o que melhor se adapta às mudanças.*

Charles Darwin

RESUMO

O *Diabetes mellitus* (DM) é uma patologia que afeta cerca de 10% da população mundial, não tem cura e apresenta elevada morbimortalidade. No diabetes, o adequado controle glicêmico está relacionado diretamente com a redução no desenvolvimento e na severidade das complicações associadas à patologia como a retinopatia, neuropatia, nefropatia e doença cardiovascular. O 1,5 anidroglucitol (1,5AG) um poliol de origem natural derivado da glucose, está associado com incursões hiperglicêmicas (picos de hiperglicemia). A redução na concentração de 1,5AG no soro está associada ao aumento na glicemia pós-prandial e glicosúria, fenômenos que aumentam o risco e a severidade das complicações diabéticas. Neste estudo avaliamos as características do 1,5AG como biomarcador para controle glicêmico e sua relação com outros marcadores laboratoriais em estudo do tipo caso-controle com os principais tipos de diabetes. O projeto tem aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFPR. Amostras de soro de 1322 indivíduos, classificados em saudáveis não gestantes (n=539), diabéticos tipo 1 (n=56), tipo 2 (n=169), gestantes saudáveis (n=281) e gestantes com diabetes gestacional (n=277) foram analisados. O 1,5AG foi quantificado em sistema automatizado utilizando o ensaio enzimático (GlycoMark). As principais conclusões do trabalho foram: (i) em pacientes com diabetes (DM1, DM2 e DMG) o 1,5AG não apresentaram correlação significativa com os componentes do perfil lipídico (colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides) ou com os marcadores de função renal uréia e creatinina; (ii) o 1,5AG apresentou correlação significativa e positiva com o ácido úrico em todos os tipos de diabetes estudados; (iii) entre os marcadores de rotina para o controle glicêmico (glicemia de jejum e HbA1C) somente a HbA1C apresentou correlação significativa e negativa com todos os tipos de diabetes em estudo; (iv) o 1,5AG não foi capaz de classificar com eficiência pacientes com diabetes tipo 2 de indivíduos saudáveis; (v) as concentrações séricas de 1,5AG de 10 µg/mL permitem separar o grupo com diabetes tipo 1 de indivíduos saudáveis com sensibilidade (84%), especificidade (97%) e acurácia (96%); (vi) o 1,5AG pode ser utilizado para triagem e diagnóstico no período inicial da gestação (12-23 semanas), onde concentrações séricas <10 µg/mL permitem identificar gestantes diabéticas; (vii) os valores de referência para 1,5AG (µg/mL) em indivíduos saudáveis foi 9,1-40,3 para homens, 6,9-36,4 para mulheres (não grávidas) e 3,0-37,9 para gestantes saudáveis, e (viii) em gestantes saudáveis os valores de referência para 1,5AG (µg/mL) se alteram significativamente durante o período de gestação, sendo no início 5,1-37,3 (13-23 semanas), 1,4-21,9 (24-28 semanas), 5,2—29,6 (29-32 semanas) e em períodos mais longos 2,9-49,7 (≥33 semanas). Em síntese, o 1,5 anidroglucitol como biomarcador para o diabetes tem características diferentes dos marcadores tradicionais o que permite capturar e estratificar novas e relevantes informações associadas ao diabetes tipo 1 e DMG no início da gestação, motivo pelo qual o recomendamos para ser introduzido na rotina laboratorial.

Palavras chave: 1,5 anidroglucitol, hemoglobina glicada, HbA1C, controle glicêmico, hiperglicemia; diabetes, diabetes gestacional, diabetes tipo 1, diabetes tipo 2.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a disease that affects about 10% of the world population, has no cure and high morbidity and mortality. In diabetes, adequate glycemic control is directly related to the reduction in the development and severity of complications associated with the disease such as retinopathy, neuropathy, nephropathy and cardiovascular disease. The 1,5 anhydroglucitol (1,5 AG) a polyol of natural origin derived from glucose, is associated with hyperglycemic excursions (peak of hyperglycaemia). The reduction in serum levels of 1,5 AG is associated with an increase in postprandial glycemia and glucosuria, phenomena that increase the risk and severity of diabetic complications. This study evaluated the characteristics of 1,5AG as a biomarker for glycemic control and its relationship with other laboratory markers in a study type case-control with the three major types of diabetes. The project was approved by the Committee of Ethics in Human Research of UFPR. Serum samples from 1,322 individuals classified as healthy nonpregnant women (n = 539), type 1 diabetics (n = 56), type 2 diabetics (n = 169), healthy pregnant women (n = 281) and pregnant women with gestational diabetes (n = 277) were analyzed. 1,5AG was measured by automated enzymatic assay (GlycoMark). The main conclusions were: (i) in patients with diabetes (DM1, DM2 and GDM), the 1,5AG showed no significant correlation with the components of the lipid profile (total cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol and triglycerides) or with markers of kidney disease such urea and creatinine, (ii) the 1,5AG was significant and positively correlated with uric acid in all studied types of diabetes, (iii) among markers for routine glycemic control (fasting glucose and HbA1C) HbA1C was the only marker that showed a negative and significant correlation with all types of diabetes, (iv) 1,5AG was not suitable to effectively classify patients with type 2 diabetes in healthy individuals, (v) the serum concentrations of 1,5AG of 10 µg/mL, allows to separate type 1 diabetics from healthy individuals with sensitivity (84%), specificity (97%) and accuracy (96%); (vi) 1,5AG can be used to screening and diagnosis diabetes in the early period of pregnancy (12-23 weeks), where serum concentrations <10 µg/mL identifying diabetic pregnant women, (vii) the reference values for 1,5AG (µg/mL) in healthy subjects was 9.1 to 40.3 for men, 6.9 to 36.4 for women (not pregnant) and 3.0 to 37.9 for healthy pregnant women, and (viii) in healthy pregnancy the reference values for 1,5AG (µg/mL) significantly change during pregnancy, values of 5.1 to 37.3 (13-23 weeks), 1.4 to 21.9 (24-28 weeks), 5.2 to 29.6 (29-32 weeks) and from 2.9 to 49.7 (≥ 33 weeks). In summary, the 1,5 anhydroglucitol showed different characteristics from the traditional markers and are able to capture and stratify new and relevant information associated with diabetes. So, we recommend this biomarker for routine clinical practice.

Keywords: 1,5 anhydroglucitol, glycated hemoglobin, A1C, glycemic control, hyperglycemia, gestational diabetes, type 1 diabetes, type 2 diabetes, diabetes.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. PRINCIPAIS VIAS METABÓLICAS ATIVADAS PELA HIPERGLICEMIA ASSOCIADAS ÀS COMPLICAÇÕES DO DIABETES.	29
FIGURA 2. EFEITO DA HIPERGLICEMIA NA PATOGÊNESE DO DIABETES E SUAS COMPLICAÇÕES.	31
FIGURA 3. COMPARAÇÃO DO TEMPO DE RESPOSTA DE BIOMARCADORES PARA O CONTROLE GLICÊMICO, SEGUNDO (GLYCOMARK®: http://www.glycomark.com/).....	34
FIGURA 4. ESTRUTURA QUÍMICA DA D-GLUCOSE E DO 1,5 ANIDROGLUCITOL.	47
FIGURA 5. MODELO DA REABSORÇÃO TUBULAR DO 1,5AG E GLICOSE EM CONDIÇÕES DE NORMO- E HIPERGLICEMIA	48
FIGURA 6. CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE INSULINA.	55
FIGURA 7. FLUXOGRAMA PARA CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS EM ESTUDO.	58
FIGURA 8. PRINCÍPIO METODOLÓGICO DA QUANTIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO 1,5 ANIDROGLUCITOL UTILIZANDO O REAGENTE GLYCOMARK.....	62
FIGURA 9. DISTRIBUIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE 1,5AG NOS GRUPOS EM ESTUDO	68
FIGURA 10. ASSOCIAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE 1,5AG E IDADE NOS GRUPOS EM ESTUDO.....	71
FIGURA 11. RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE 1,5AG E HBA1C E GLICEMIA DE JEJUM NOS GRUPOS COM DIABETES (DM1+DM2).....	72
FIGURA 12. CONCENTRAÇÕES DOS BIOMARCADORES DE CONTROLE GLICÊMICO EM DIABÉTICOS (DM1 E DM2).	74
FIGURA 13. COMPORTAMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE 1,5 ANIDROGLUCITOL DURANTE A GESTAÇÃO EM PACIENTES SAUDÁVEIS E COM DMG.	94
FIGURA 14. RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE 1,5 ANIDROGLUCITOL EM QUATRO PERÍODOS DA GESTAÇÃO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS E COM DIABETES GESTACIONAL	94
FIGURA 15. RELAÇÃO ENTRE AS RAZÕES DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE 1,5 ANIDROGLUCITOL E MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL EM QUATRO PERÍODOS DA GESTAÇÃO.	96
FIGURA 16. CURVA ROC (<i>RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC</i>) PARA OS GRUPOS CONTROLE E DM2.....	105

FIGURA 17. CURVA ROC (*RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC*) PARA OS GRUPOS CONTROLE E DM1..... 106

FIGURA 18. CURVA ROC (*RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC*) PARA GESTANTES EM QUATRO PERÍODOS DA GESTAÇÃO. 107

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. CLASSIFICAÇÃO DO <i>DIABETES MELLITUS</i>	21
TABELA 2. TRIAGEM PARA DIABETES GESTACIONAL.....	24
TABELA 3. CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DO DIABETES.....	27
TABELA 4. MÉTODOS NOVOS E TRADICIONAIS PARA AVALIAÇÃO DO CONTROLE GLICÊMICO	33
TABELA 5. CONDIÇÕES QUE CAUSAM INACURÁCIA NAS DOSAGENS DE HbA1C....	38
TABELA 6. METAS TERAPÊUTICAS PARA O CONTROLE GLICÊMICO.....	52
TABELA 7. HIPOGLICEMIANTES ORAIS DE USO NO TRATAMENTO DO PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2.....	54
TABELA 8. CRITÉRIOS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS EM ESTUDO.....	57
TABELA 9. MÉTODOS E VALORES DE REFERÊNCIA DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS.	60
TABELA 10. MATRIZ DE ACURÁCIA.....	64
TABELA 11. CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E CLÍNICAS DOS DIABÉTICOS TIPOS 1 E 2 E CONTROLES NA AMOSTRA EM ESTUDO.	66
TABELA 12. CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BIOMARCADORES PARA OS GRUPOS EM ESTUDO.....	67
TABELA 13. COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE 1,5 ANIDROGLUCITOL E BIOMARCADORES DE CONTROLE GLICÊMICO CLASSIFICADOS POR GÊNERO.....	69
TABELA 14. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE 1,5 ANIDROGLUCITOL E MARCADORES ANTROPOMÉTRICOS E DE CONTROLE GLICÊMICO PARA OS GRUPOS EM ESTUDO.....	70
TABELA 15. CORRELAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE 1,5AG COM O DIABETES (DM1 E DM2) DE ACORDO COM O CONTROLE GLICÊMICO.....	73
TABELA 16. CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E CLÍNICAS DAS GESTANTES DIABÉTICAS NA AMOSTRA EM ESTUDO	91
TABELA 17. COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM GESTANTES SAUDÁVEIS E COM DIABETES GESTACIONAL.....	92
TABELA 18. CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE 1,5 ANIDROGLUCITOL E PARÂMETROS LABORATORIAIS	93

TABELA 19. COMPARAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES DE CONTROLE GLICÊMICO EM PERÍODOS DA GESTAÇÃO EM GESTANTES SAUDÁVEIS E COM DIABETES GESTACIONAL.	95
TABELA 20. COMPARAÇÕES ENTRE PARÂMETROS DE SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE PARA VALORES DE CORTE NOS GRUPOS EM ESTUDO.	108
TABELA 21. VALORES DE REFERÊNCIA PARA 1,5 ANIDROGLUCITOL EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS.	109

LISTA DE ANEXOS

ANEXO I. Carta de Aprovação Comitê de Ética

ANEXO II. Modelo do Questionário aplicado aos pacientes

ANEXO III. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

ANEXO IV. Programação para o Equipamento Automatizado Cobas Mira (Roche Diagnóstica) para dosagem do 1,5 anidroglucitol

LISTA DE ABREVIATURAS

1,5AG	- 1,5 anidroglucitol
AACE	- <i>Diabetes mellitus</i> Clinical Practice Guidelines Task Force
ADA	- <i>American Diabetes Association</i> – Associação Americana de Diabetes
AGE	- <i>Advanced Glycation end Products</i> -Produtos de Glicação Avançada
ANAES	- <i>Agence Nationale d'Accreditation et d'Evaluation en Sante</i> - French
AVC	- Acidente Vascular Cerebral
CDC	- Centro para Controle e Prevenção de Doenças Norte Americano
CGMS	- <i>Continuous Glucose Monitoring System</i> , Sistema para monitoração contínua da glicose
CLAD	- cromatografia líquida de alto desempenho
DAC	- Doença Arterial Coronariana
DCCT	- <i>Diabetes Control and Complications Trial Research Group</i> - Grupo de Pesquisa para Controle do Diabetes e Triagem das Complicações
DM1	- <i>Diabetes mellitus</i> tipo 1
DM2	- <i>Diabetes mellitus</i> tipo 2
DMG	- <i>Diabetes mellitus</i> Gestacional
FDA	- <i>Food and Drug Administration</i>
GPP	- Glicemia Pós Prandial
HbA	- Hemoglobina A
HbA1	- Hemoglobina A1
HbA2	- Hemoglobina A2
HbA1C	- Hemoglobina Glicada fração A1C
HbF	- Hemoglobina F ou fetal
HbS	- Hemoglobina S
HC	- Hospital de Clínicas da UFPR
HDL	- HDL-colesterol
HGPP	- Hiperglicemia Pós Prandial

HPLC	- <i>High performance liquid chromatography</i> – Cromatografia Líquida de Alta Performance
GLP-1	- <i>Glucagon-Like Peptide-1</i>
GIP	- <i>Gastric Inhibitory Polypeptide</i>
IFD	- <i>International Federation of Diabetes</i>
IMC	- Índice de massa Corpórea
LDL	- LDL-colesterol
MODY	- <i>Maturity-onset diabetes of the young</i> , Diabetes da maturidade de início precoce
MODY-2	- <i>Maturity-onset diabetes of the young type 2</i>
NGSP	- <i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i> , Programa de Padronização Nacional da glicohemoglobina
OMS	- Organização Mundial de Saúde
PAD	- Pressão Arterial Diastólica
PAS	- Pressão Arterial Sistólica
RAGE	- Receptor de AGE
ROC	- <i>Receiver Operating Characteristic</i>
ROS	- Espécies Reativas de Oxigênio
SBD	- Sociedade Brasileira de Diabetes
SBPC/ML	- Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial
SEMPR	- Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas da UFPR
SIH	- Sistema de Informação Hospitalar
TOTG	- Teste Oral de Tolerância à Glicose
UKPDS	- <i>United Kingdom Prospective Diabetes Study</i>
VLDL-c	- VLDL-colesterol
WHO	- <i>World Health Organization</i> , OMS

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	OBJETIVOS.....	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	19
3	REVISÃO DE LITERATURA.....	20
3.1	CLASSIFICAÇÃO DO DIABETES	20
3.1.1	<i>Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)</i>	21
3.1.2	<i>Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)</i>	22
3.1.3	<i>Diabetes mellitus Gestacional (DMG)</i>	23
3.2	EPIDEMIOLOGIA.....	25
3.3	CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS	26
3.4	COMPLICAÇÕES ASSOCIADAS AO DIABETES MELLITUS.....	27
3.5	CONTROLE GLICÊMICO.....	32
3.5.1	<i>Proteínas glicadas</i>	34
3.5.1.1	<i>Hemoglobina Glicada (HbA1C)</i>	35
3.5.1.2	<i>Frutossamina</i>	42
3.5.2	<i>Glicose urinária</i>	44
3.5.3	<i>Hiperglicemia pós-prandial</i>	44
3.5.4	<i>Glicemia de jejum e auto monitorização da glicose</i>	46
3.5.5	<i>O 1,5-anidroglucitol (1,5AG)</i>	46
3.6	METAS PARA O CONTROLE GLICÊMICO.....	52
3.7	TRATAMENTO DO DIABETES	53
3.7.1	<i>Hipoglicemiantes orais</i>	53
3.7.2	<i>Insulina</i>	55
4	MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4.1	AMOSTRAS.....	56
4.2	CRITÉRIOS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS	57
4.3	COLETA, SEPARAÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES BIOQUÍMICAS	59
4.4	REAGENTES E DOSAGENS.....	59
4.5	DOSAGEM DO 1,5 ANIDROGLUCITOL (1,5AG)	61
4.5.1	<i>Imprecisão analítica do método enzimático</i>	62
4.6	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	63
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	65
5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS CONTROLE E COM <i>DIABETES MELLITUS</i> TIPOS 1 E 2.	65
5.2	DISCUSSÃO DOS ESTUDOS COM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 1 E 2.....	75
5.3	RESULTADOS DAS PACIENTES DIABÉTICAS GESTACIONAIS	91
5.4	ANÁLISE DOS ESTUDOS COM PACIENTES COM DIABETES GESTACIONAL	97
5.5	RESULTADOS COMBINADOS DO GRUPOS DM1, DM2 E GESTACIONAL.....	104
5.6	ANÁLISE CONJUNTA DOS DIFERENTES TIPOS DE DIABETES.....	110

6	PERSPECTIVAS FUTURAS	114
7	CONCLUSÕES	116
	REFERÊNCIAS	118
	ANEXOS	137

1 INTRODUÇÃO

O *Diabetes mellitus* é um conjunto de doenças metabólicas do metabolismo da glicose no qual a glicose é subutilizada, produzindo hiperglicemia. Os três principais tipos de diabetes são o *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1), *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2) e *Diabetes mellitus* gestacional (DMG).

A morbidade e a mortalidade do diabetes são devidas principalmente a complicações diabéticas vasculares. A condição diabética acelera a aterogênese, o infarto miocárdial e o acidente vascular cerebral, bem como, leva ao desenvolvimento de complicações microvasculares, sendo as três principais: retinopatia, nefropatia e neuropatia (STERN et al., 2002; SAKURAI et al., 2003; NAKA et al., 2004; WAUTIER e SCHMIDT, 2004; YONEKURA et al., 2005).

O diabetes é uma doença comum, embora a prevalência exata não seja conhecida. Um estudo realizado por Danaei e colaboradores (2011) estimaram que existiam 347 milhões de adultos com diabetes em 370 países, um número maior que previamente estimado de 285 milhões para o ano de 2010 (SHAW et al., 2011). Sendo que 40% (~138 milhões) das pessoas com diabetes eram da China e Índia, 10% (~36 milhões) dos EUA e Rússia, 12% (~42 milhões) do Brasil, Paquistão, Indonésia, Japão e México. Esta revisão sistemática demonstra que a glicemia e o diabetes estão aumentando de forma perigosa mundialmente, com um número de diabéticos adultos que dobrou em apenas 3 décadas. Mesmo que tenha ocorrido um crescimento populacional e aumento do envelhecimento, constituindo importantes fatores para aumento destes números, existe também um importante componente epidemiológico com o aumento da glicemia em jejum em uma idade padronizada globalmente de 13mg/dL (0,07 mmol/L) por década (DANAIE et al., 2011).

O controle glicêmico afeta o desenvolvimento e a velocidade de progressão das complicações associadas ao diabetes. Está bem estabelecido que o controle da glicemia reduza ou previna as complicações associadas ao *Diabetes mellitus* (REICHARD et al., 1993; DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP, 1995; OHKUBO et al., 1995; UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY, 1998a; STRATTON et al., 2000). Biomarcadores que permitem monitorar o controle glicêmico são ferramentas essenciais para que os diabéticos atinjam metas adequadas da glicemia.

O grau de controle glicêmico no paciente diabético tem sido comumente avaliado através de medidas da glicemia de jejum, glicemia após sobrecarga oral de glicose (TOTG) e/ou Glicemia Pós Prandial (GPP) e através da determinação da hemoglobina glicada (HbA1C). Cada um possui diferente utilidade e limitações.

A glicemia de jejum é a mais utilizada na avaliação do controle glicêmico; reflete os valores mais baixos de glicemia do dia, sofre a menor variabilidade e é considerado método pouco sensível para avaliação do perfil da glicose plasmática durante o dia. Uma de suas principais limitações como parâmetro de controle é que esta não aumenta com a idade e, por isso, torna-se menos sensível ainda para detectar alterações do metabolismo glicídico em indivíduos com mais de 65 anos. (TUOMILEHTO, 2002; GROSS et al., 2003). A glicemia 2 horas pós-sobrecarga e a GPP medem os picos atingidos em resposta ao teste com 75 g de glicose oral (TOTG) ou à refeição e têm sido consideradas equivalentes no que diz respeito ao seu significado fisiopatológico. Ambas tendem a aumentar com a idade, de tal modo que este comportamento pode ter implicações diagnósticas em indivíduos com faixa etária mais avançada (TUOMILEHTO, 2002).

A Hemoglobina glicada, em particular a subfração A1c (Hb A1C), pode ser medida como um índice da glicemia média durante um período de 2-3 meses, sendo o marcador melhor validado em estudos prospectivos intervencionais e epidemiológicos para predizer o risco de complicações no diabetes (PETERSON e JOVANOVIC, 1986; OHKUBO et al., 1995; GOLDSTEIN e LITTLE, 1997; UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY, 1998b; HOM et al., 1998; STRATTON et al., 2000; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2004; 2010). Contudo, a Hb A1C reflete o valor médio da glicemia, não informando sobre suas importantes flutuações (“marés glicêmicas” ou excursões glicêmicas), porque as crises hiperglicêmicas acabam sendo balanceadas por episódios de hipoglicemia.

Assim, um marcador alternativo que reflita de forma robusta a concentração da glicose pós-prandial tem relevância no monitoramento de pacientes com diabetes. Um teste diagnóstico quantificado no soro, o 1,5-anidroglicitol (1,5AG) foi recentemente proposto para o FDA como um índice de controle glicêmico em pacientes diabéticos. Embora não esteja comercialmente disponível no Brasil, este ensaio é realizado desde 1991 no Japão (YAMANOUCHI, 1991), onde tem sido utilizado rotineiramente (BUSE et al., 2003).

Desta forma, o presente trabalho visa estudar o efeito da concentração sérica do 1,5AG (1,5 anidroglucitol) como biomarcador de glicemia pós prandial, bem como sua associação com outros biomarcadores usados no controle glicêmico, como a Hemoglobina Glicada e a glicemia pós prandial.

O 1,5-anidroglucitol (1,5AG) é um novo biomarcador para o controle da glicemia pós prandial, fornecendo informação sobre o controle glicêmico nas 24-72 horas anteriores ao ensaio. Portanto, o 1,5AG apresenta uma informação diferenciada e relevante, somando-se aos demais ensaios laboratoriais.

Além disso, poucos estudos estão disponíveis sobre o 1,5AG na população brasileira. Valores de referência, comparações com outros biomarcadores e indicadores de risco/proteção associados ao diabetes estão entre os objetivos centrais deste projeto de pesquisa.

Conhecer o desempenho do 1,5AG nos principais tipos de diabetes pode identificar a pertinência do uso deste biomarcador e comprovada sua eficácia e qualidade informativa, sua introdução na rotina laboratorial. Desta forma, é relevante avaliar o potencial da utilidade diagnóstica da dosagem do 1,5AG e sua comparação com outros marcadores glicêmicos que estão correntemente disponíveis no Brasil.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito dos biomarcadores 1,5 anidroglicitol e hemoglobina glicada no *Diabetes mellitus* e suas associações com o controle glicêmico.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1 Comparar as concentrações séricas de 1,5AG com as concentrações do perfil lipídico (colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides) e marcadores de função renal (uréia, creatinina e ácido úrico) na presença e ausência do *Diabetes mellitus*;
- 2.2.2 Avaliar a correlação do 1,5AG com biomarcadores de controle glicêmico;
- 2.2.3 Avaliar o uso do 1,5 AG como biomarcador no Diabetes tipo 1 e tipo 2;
- 2.2.4 Avaliar o uso do 1,5 AG como biomarcador no Diabetes Gestacional;
- 2.2.5 Estudar a eficiência do 1,5AG para triagem e diagnóstico do diabetes;
- 2.2.6 Propor valores de referência para o 1,5AG em população brasileira saudável.

3 REVISÃO DE LITERATURA

O *Diabetes mellitus* é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção da insulina, na ação da insulina, ou em ambos. A hiperglicemia crônica do diabetes leva, a longo prazo, à disfunção e falência de vários órgãos, especialmente olhos, rins, sistema nervoso e vasos sanguíneos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012).

Muitos processos patológicos estão envolvidos no desenvolvimento do diabetes. Esses vão desde a destruição auto-imune das células β do pâncreas com conseqüente deficiência de insulina, até anomalias que resultam na resistência a ação da insulina. A base das anormalidades no metabolismo dos carboidratos, dos lipídios e das proteínas nos diabéticos, é a ação deficiente da insulina nos tecidos alvos. A ação deficiente da insulina resulta da secreção inadequada da mesma e/ou da diminuição da resposta à insulina pelo tecido (WILD et al., 2004).

3.1 CLASSIFICAÇÃO DO DIABETES

A Associação Americana de Diabetes (ADA) propõe uma classificação baseada na etiologia das várias formas do diabetes amplamente aceita na comunidade científica (ADA, 2011). As quatro grandes categorias do diabetes são:

- Diabetes Tipo 1: resultante de uma deficiência absoluta de insulina causada pela destruição auto-imune das células β do pâncreas. Essa condição é comumente designada como “insulino-dependente” ou “diabetes juvenil”.
- Diabetes Tipo 2: causado pela combinação da resistência à insulina e a deficiência de produção deste hormônio, com o aumento da produção hepática de glicose. Muitos pacientes com esta forma de diabetes são obesos, e sabe-se que a obesidade causa um aumento na resistência à insulina. É usualmente designada como “diabetes da maturidade” ou “diabetes não-insulino dependente”.
- *Diabetes mellitus* gestacional (DMG): definido como qualquer grau de intolerância à glicose com início ou primeiro reconhecimento durante a gravidez.

- Outras formas específicas de diabetes: são reconhecidos mais de 56 tipos específicos de diabetes. Como principais grupos destacam-se: defeitos genéticos na função das células β (MODY, maturity diabetes of the young); defeitos genéticos na ação da insulina; doenças do pâncreas; endocrinopatias; indução química ou por drogas; infecções; formas incomuns de diabetes mediados pelo sistema imune; síndromes genéticas associadas ao diabetes em alguns casos.

A classificação do *Diabetes mellitus*, proposta pela Associação Americana de Diabetes (ADA), é apresentada na tabela 1.

TABELA 1. CLASSIFICAÇÃO DO *DIABETES MELLITUS*

1. Diabetes tipo 1
1A) Imuno mediado
1B) Idiopático
2. Diabetes tipo 2
3. Outros tipos específicos
Defeitos genéticos da função das células β (MODY)
Defeitos genéticos da ação da insulina
Doenças do pâncreas exócrino
Endocrinopatias
Químico ou induzido por drogas
Infecções
Formas incomuns de diabetes imuno-mediadas
Outras síndromes genéticas associadas ao diabetes
4. Diabetes gestacional

FREQUÊNCIAS

~5 – 10 %

> 90 %

~4% das gestações

Fonte: Adaptado de (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2011 citado por SACKS et al., 2011)

3.1.1 *Diabetes mellitus* tipo 1 (DM1)

É uma doença heterogênea caracterizada por deficiência de insulina e causada por destruição das células β do pâncreas. O DM1 representa 5 a 10% dos casos de diabetes e com diagnóstico frequente em crianças e adolescentes (75%

dos casos). Se apresenta nas formas clássicas e silenciosa. O tratamento com insulina exógena é mandatório e associado a sobrevida do paciente, onde normalizar a glicemia e a HbA1C, além de prevenir a cetoacidose e a hipoglicemia, permite controlar o desenvolvimento de complicações micro e macrovasculares (HIRATA e HIRATA, 2006).

O *Diabetes mellitus* tipo 1 tem etiologia multifatorial com relevante influência genética, como os genes do complexo leucocitário humano (HLA) e ambientais, como a exposição a agentes virais, toxinas ambientais, alimentos, entre outros (HIRATA e HIRATA, 2006).

A destruição das células β é geralmente causada por processo auto-imune, que pode ser detectado por auto-anticorpos circulantes como o anti-descarboxilase do ácido glutâmico (anti-GAD), anti-ilhotas e anti-insulina (GROSS et al., 2002; GROSSI et al., 2002). Em certos pacientes esta descrita uma associação a outras doenças auto-imunes como a tireoidite de Hashimoto, a doença de Addison e a miastenia gravis. Em menor proporção, a causa da destruição das células β é desconhecida, caracterizando o diabetes tipo 1B ou idiopático (CASTIEL e COIMBRA, 2006).

3.1.2 *Diabetes mellitus* tipo 2 (DM2)

O DM2 é uma síndrome heteogênea, que resulta na deficiência na secreção de insulina pelas células β do pâncreas e hiperglicemia pelo aumento da gliconeogênese hepática devido à resistência à insulina no músculo esquelético (PETERSEN e SHULMAN, 2006). Este grupo representa cerca de 90% do total de diabéticos (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2001).

O DM2 é uma doença multifatorial com enorme interação entre os fatores genéticos e ambientais proporcionando o aparecimento de diversos fenótipos intermediários (HIRATA e HIRATA, 2006), também denominado diabetes não-insulino dependente.

A obesidade esta presente em cerca de 90% dos pacientes que desenvolvem esta forma de diabetes (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2001), o que culmina na alteração da resistência à insulina no organismo destas pessoas. É reconhecido o efeito genético neste tipo de diabetes.

A dificuldade no diagnóstico do DM2 está relacionada ao fato da maioria dos pacientes portadores da patologia não apresenta manifestações clássicas (poliúria, polidipsia, polifagia e emagrecimento). A prevalência aumenta com a idade.

Sendo assim, o DM2 é caracterizado por determinações de glicemia solicitadas preventivamente ou, esporadicamente, devido a manifestações como redução rápida da acuidade visual, infecções repetidas, dificuldade na cicatrização de feridas entre outras manifestações comuns a múltiplos processos patológicos (BEN-HAROUSH et al., 2004). Estima-se que no Brasil cerca de 50% dos pacientes com diabetes não tem diagnóstico (SBD, 2008).

O DM2 tem início insidioso, com sintomas inespecíficos, que pode retardar o diagnóstico.

Diferenciar os tipos de diabetes 1 e 2 pode ser difícil em alguns casos, em crianças, adolescentes ou adultos, sendo que o diagnóstico correto pode tornar-se mais óbvio com a evolução da doença (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012).

3.1.3 *Diabetes mellitus* Gestacional (DMG)

É definido como a intolerância a glicose com início ou primeiro reconhecimento durante a gravidez (BUCHANAN et al., 2007; SBD, 2009). Como todas as formas de hiperglicemia o diabetes gestacional resulta de uma inadequada oferta de insulina endógena para a demanda tecidual.

A gravidez é usualmente acompanhada de resistência à insulina progressiva que inicia na metade da gestação e progride até o terceiro trimestre para níveis que se aproximam dos observados nos indivíduos com diabetes tipo 2 (BUCHANAN et al., 2007). As causas potenciais da inadequação da célula β pancreática na produção de insulina são múltiplas e não completamente descritas (BARBOUR et al., 2007). Pode-se estratificar o risco associado ao diabetes gestacional da seguinte maneira: (1) Risco Alto (a presença de qualquer dos fatores é suficiente para o enquadramento nesta categoria): Obesidade marcante, diabetes em familiares de primeiro grau, história pessoal de intolerância à glicose e gestação anterior com neonato macrossômico; (2) Risco Médio: Não se enquadra como risco alto ou baixo; (3) Risco Baixo (necessário apresentar todas as características): Idade < 25 anos,

etnia associada a baixo risco, ausência de diabetes em familiares de primeiro grau, ganhos de peso antes e durante a gravidez normais, ausência de história de concentrações de glicose séricas anormais, ausência de intercorrências obstétricas prévias, presença de glicosúria (BUCHANAN et al., 2007).

Os fatores de risco associados ao diabetes gestacional são:

- Fatores maternos: Idade avançada, múltiparas, peso na gestação, ganho de peso durante a gestação, IMC = 27 kg/m^2 , baixa estatura, baixo peso do recém nato, traço talassêmico, Síndrome do ovário policístico e alto consumo de gordura saturada.
- História familiar: História familiar de diabetes, mãe com histórico de diabetes gestacional e diabetes gestacional prévia.
- Fatores gestacionais: hipertensão, gravidez múltipla.

Também para o feto e neonato, o diabetes gestacional tem impacto importante. Crianças de mães diabéticas apresentaram frequência maior que as não diabéticas de morte fetal intrauterina, má-formação congênita e hipoglicemia do recém-nato, além de maior frequência de crianças macrossômicas, provocando o aumento do número de partos que necessitam de cesareanas (KIM, C. et al., 2002).

A triagem para o DMG é realizada assim que a mãe inicia o pré-natal. É realizada uma dosagem de glicemia de jejum, e se alterada ($\geq 92 \text{ mg/dL}$) será realizada curva glicêmica para gestantes (2hs) entre a 24^a e 28^a semanas da gestação; pois é neste período em que ocorrem os picos do hormônios diabetogênicos e a probabilidade de a patologia já estar manifesta é maior.

TABELA 2. TRIAGEM PARA DIABETES GESTACIONAL

TRIAGEM PARA O DIAGNÓSTICO DE GDM	
Medida de Glicose	Limiar de Concentração de Glicose (mg/dL) ^a
Glicemia em jejum	≥ 92
Glicemia 1-h pós-prandial	≥ 180
Glicemia 2-h pós-prandial	≥ 153
Um ou mais destes valores a partir de um teste oral de tolerância a glicose (TOTG) com 75 g de glicose deve ser igualado ou excedido para o diagnóstico de DMG, realizado entre a 24-28 semanas de gestação.	
Devem ser excluídas mulheres com diabetes prévio.	

Fonte: Adaptado de: (SACKS et al., 2011; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012).

3.2 EPIDEMIOLOGIA

Diabetes mellitus (DM) é uma das doenças crônicas mais comuns no mundo, constituindo um problema de saúde pública.

O diabetes tem se tornado a maior causa de morbidade e mortalidade nos Estados Unidos e está crescendo rapidamente nos demais países. O centro para Controle e Prevenção de Doenças Norte Americano (CDC) estima que a prevalência do diabetes tenha crescido 104% de 1980 até 2004 . Esse crescimento é atribuído ao aumento da população, à maior expectativa de vida, à urbanização, à obesidade e à falta de atividade física (WILD et al., 2004).

Dados de 2005 e 2006 indicam que 42 milhões de adultos nos Estados Unidos têm diabetes (COWIE et al., 2009). O que preocupa é que a doença não foi diagnosticada em 40% destes indivíduos. Em projeções realizadas sobre a expansão do diabetes, acredita-se que a porcentagem de pessoas com a doença nos Estados Unidos em 2050 irá corresponder a 33% da população (BOYLE et al., 2011). A grande prevalência e o grande aumento nas projeções não estão confinadas ao Estados Unidos. A prevalência mundial de diabéticos entre adultos (20 – 79 anos) atualmente estima-se ser 285 milhões (6,4%) e irá aumentar para 439 milhões em 2030.

Entre 2010 e 2030, projeta-se que o número de adultos afetados aumentará para 69% em países em desenvolvimento e 20% em países desenvolvidos (SHAW et al., 2011). Um estudo recente demonstrou que a China apresenta taxas maiores que a inicialmente projetada (YANG et al., 2010). Estes números surpreendentes revelam a magnitude do problema global de saúde causados pelo diabetes (SACKS et al., 2011).

A Organização Mundial da Saúde estima que 5% de todas as mortes ocorridas anualmente no mundo são decorrentes das complicações do *Diabetes mellitus* (DM), e que esta taxa tende a crescer mais de 50% nos próximos 10 anos (ADA, 2012; WHO, 2011). No Brasil, segundo dados do Ministério da Saúde, 9,7% da população é diabética ().

Mesmo com melhorias no diagnóstico, tratamento e acompanhamento do paciente com diabetes sua expectativa de vida ainda é bem menor que a de um indivíduo de mesma idade sem esta síndrome. O DM está associado com aumento da morbidade e mortalidade decorrente do desenvolvimento de complicações

microvasculares, como nefropatia, retinopatia e neuropatia, e macrovasculares, como acidente vascular cerebral e infarto agudo do miocárdio, sendo o último a maior causa de morte entre os pacientes com DM (COWIE e RUST, 2006).

O diabetes é uma doença de elevada prevalência, atingindo todas as classes sociais, etnias e faixas etárias, com elevado custo econômico e humano, portanto um problema de Saúde Pública (NATHAN, 2006).

3.3 CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS

O diagnóstico de diabetes é estabelecido através da identificação da presença de hiperglicemia. Por muitos anos o único método recomendado para o diagnóstico foi uma demonstração direta da hiperglicemia, medindo as concentrações de glicose aumentada no plasma (SACKS et al., 2011).

Com o decorrer dos anos muitos estudos mostraram a necessidade de se padronizar as dosagens e os critérios utilizados tanto no diagnóstico como no controle glicêmico. Esses critérios foram estabelecidos em 1997 e aprovados pela Organização Mundial de Saúde e utilizados na prática laboratorial. Em 2009 um grupo de pesquisadores recomendou o uso da hemoglobina glicada fração A1C (HbA1C) como critério diagnóstico, fato esse que foi amplamente discutido pela comunidade científica, que recomendou que essa proteína fosse utilizada como auxiliar no diagnóstico, pois reflete as concentrações de glicose no sangue a longo prazo.

Esses critérios atualizados estão descritos na tabela 3.

TABELA 3. CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DO DIABETES MELLITUS.

CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DO DIABETES ^a
Qualquer um dos seguintes achados:
HbA1C $\geq 6,5\%$^b
ou
Glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL^c
ou
Glicose Plasmática pós 2h ≥ 200 mg/dL durante o TOTG^d
ou
Sintomas de hiperglicemia e glicose plasmática casual ≥ 200mg/dL^e

a. Na ausência de hiperglicemia inequívoca, estes critérios devem ser confirmados pela repetição do teste.

b. O teste deve ser realizado em um laboratório que é certificado pelo NGSP e padronizado para o ensaio DCCT. Ensaio point-of-care (beira-de-leito) não devem ser utilizados para o diagnóstico.

c. O jejum é definido como nenhuma ingestão calórica por pelo menos 8 horas.

d. O TOTG deve ser realizado conforme descrito pela OMS, com uma sobrecarga de glicose, contendo o equivalente a 75 g de glicose anidra dissolvida em água.

e. A glicemia "Casual" é definida como a dosagem de glicose a qualquer hora do dia sem ter em conta o tempo decorrido desde a refeição anterior.

Fonte: Adaptado de: (SACKS, et al., 2011; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012),

3.4 COMPLICAÇÕES ASSOCIADAS AO DIABETES MELLITUS

Alguns pacientes podem experimentar episódios agudos desencadeados pela hiperglicemia como cetoacidose ou o coma diabético hiperosmolar, cuja severidade pode levar ao óbito. Pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2 possuem elevado risco para o desenvolvimento de complicações crônicas (NATHAN, 1993; BROWNLEE, 2001).

Com o desenvolvimento da doença, o risco para complicações específicas aumenta, incluindo entre elas a retinopatia que pode resultar em cegueira, nefropatia que resulta em insuficiência renal e a neuropatia, as quais coletivamente são denominadas de complicações microvasculares, bem como aterosclerose, que é considerada uma complicação macrovascular (NATHAN,1993; SHEETZ e KING, 2002). Esta último pode resultar em derrame, gangrena ou doença arterial coronariana (CALLES-ESCANDON e CIPOLLA, 2001; RETNAKARAN e ZINMAN, 2008).

O diabetes apresenta elevada morbi-mortalidade, com perda importante na qualidade de vida. É uma das principais causas de mortalidade, insuficiência renal, amputação de membros inferiores, cegueira e doença cardiovascular. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou em 1997 que, após 15 anos de doença, 2% dos indivíduos acometidos estarão cegos e 10% terão deficiência visual grave. Além disso, estimou que, no mesmo período de doença, 30 a 45% terão algum grau de retinopatia, 10 a 20%, de nefropatia, 20 a 35%, de neuropatia e 10 a 25% terão desenvolvido doenças cardiovasculares (CASTIEL e COIMBRA, 2006).

A complicação vascular diabética é a primeira causa do estágio final da insuficiência renal, cegueira adquirida e uma variedade de doenças e neuropatias, o que contribui para incapacitação dos pacientes com diabetes tipo 1 e tipo 2, bem como com a alta taxa de mortalidade (YAMAGUSHI et al., 2008).

Existe uma relação direta entre o grau de controle de glicemia crônica e o risco de complicações tardias do rim, da retina e neurológicas. Essa correlação tem sido documentada em estudos epidemiológicos e ensaios clínicos para o diabetes tipo 1 e tipo 2 (STRATTON et al., 2000). O importante papel da hiperglicemia causal no desenvolvimento e progressão das complicações tem sido documentado em ensaios clínicos. Diabéticos tipo 1 que reduzem a glicemia média exibem uma incidência significativamente menor de complicações microvasculares (retinopatia, nefropatia e neuropatia) (UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY, 1998b).

Tanto a hiperglicemia como a resistência a insulina parecem ser importantes na patogênese das complicações macrovasculares (UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY, 1998b; GINSBERG, 2000; BROWNLEE, 2001). A compreensão dos mecanismos moleculares envolvidos com as alterações ocasionadas pela hiperglicemia tem evoluído (BROWNLEE, 2001; SHEETZ e KING, 2002). Cinco hipóteses amplamente aceitas para explicar como a hiperglicemia causa patologia vascular e neural, foram levantadas: i) aumento da atividade da via dos polióis; ii) ativação da proteína quinase C; iii) aumento do influxo da via da hexosamina; iv) produção de superóxido pela cadeia transportadora de elétrons mitocondrial e v) glicação não enzimática de proteínas produzindo produtos finais de glicação avançada (AGE), os quais ativam sinalizações através do receptor para AGE (RAGE) (BROWNLEE, 2001; YONEKURA et al., 2005).

A Figura 1 mostra o potencial mecanismo pelo qual a hiperglicemia induz a superprodução de superóxido que ativa quatro vias metabólicas envolvidas no dano hiperglicêmico. A hiperglicemia crônica aumenta a disponibilidade de substratos (sorbitol, frutose) que favorecem ao acúmulo de moléculas associadas as complicações do diabetes como o sorbitol, as hexosaminas, a proteína quinase C e produtos de glicação avançada (AGEs). O *milieu* hiperglicêmico também favorece o aumento e ação deletéria de espécies reativas de oxigênio (ROS).

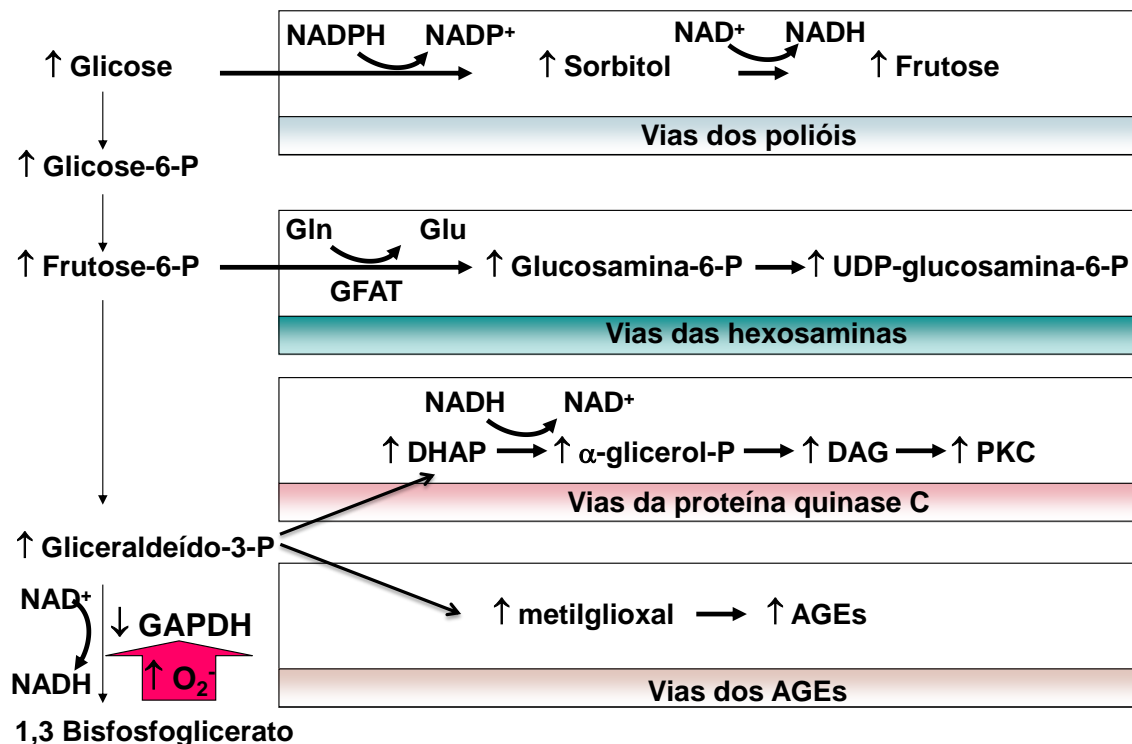


FIGURA 1. PRINCIPAIS VIAS METABÓLICAS ATIVADAS PELA HIPERGLICEMIA ASSOCIADAS ÀS COMPLICAÇÕES DO DIABETES.

O excesso de superóxido (↑O₂⁻) parcialmente inibe a enzima glicolítica gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (↓ GAPDH), com isso desviando os metabólitos a montante para vias de superutilização da glicose. Isto resulta no aumento do fluxo de diidroxiacetona fosfato (DHAP) à diacilglicerol (DAG), um ativador da proteína quinase C (PKC), e triose fosfato à metilglioxal, o principal precursor intracelular de AGE (*advanced glycation end products* - produtos de glicação avançada). O aumento do fluxo de frutose-6-fosfato à UDP-N-acetilglucosamina aumenta a modificação de proteínas por ligações com N-acetilglucosamina tipo O-glicosídicas e aumento do fluxo de glicose através da via dos polióis que consome NADPH e depleta glutathiona reduzida (GSH). NAD⁺, nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidado; NADH, nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzido; GFAT, glutamina frutose-6-fosfato amidotransferase; Gln, glutamina; Glu, glutamato.

Fonte:(BROWNLIE, 2001).

Entre as principais complicações associadas com o diabetes estão as doenças micro- e macrovasculares, as quais estão relacionadas com a ação dos

produtos finais de glicação avançada (AGEs, *advanced glycation end products*). Os AGEs tem suas concentrações elevadas devido a manutenção da hiperglicemia e do estresse oxidativo (BROWNLEE, 2001; HUDSON et al., 2001; YONEKURA et al., 2005; GOLDIN et al., 2006).

Os AGEs resultam da glicação não enzimática de proteínas (GOLDIN et al., 2006) e lipídeos (BROWNLEE, 1995), e ocorrem naturalmente durante o processo de envelhecimento. Diabéticos, em especial aqueles com controle glicêmico inadequado, e consequentemente hiperglicemia crônica, produzem maior quantidade de AGEs. Estas moléculas produzem efeito pleiotrópico através de diferentes mecanismos (BROWNLEE, 1995). As várias respostas biológicas são induzidas pela interação celular com proteínas-AGEs (proteínas ligadas a AGEs), não somente através da captação e degradação endocítica, mas também pela indução de citocinas e fatores de crescimento (VLASSARA et al., 1995). Acredita-se que essas respostas celulares deletérias sejam mediadas por receptores AGE, sendo que RAGE (receptor para AGE) é o receptor mais estudado e comprovadamente envolvido nestes processos (NEEPER et al., 1992; SCHMIDT, et al., 1992; SUGAYA et al., 1994). A hiperglicemia de longo termo (crônica) acelera a formação e o acúmulo de AGEs e leva à superexpressão de seu receptor celular RAGE no diabetes (AHLQVIST et al., 2011). A interação AGE-RAGE desencadeia uma transdução de sinal com ativação da transcrição de várias proteínas intracelulares com efeito resultante pró-inflamatório, pró-aterogênico e pró-coagulante, entre outros (SCHMIDT et al., 1992; BIERHAUS et al., 2005).

O efeito da hiperglicemia na fisiopatologia do diabetes estende-se desde o ataque autoimune das células β -pancreáticas à resposta crônica induzida pela manutenção da hiperglicemia e levando finalmente às complicações micro e macro vasculares e estão esquematizados na Figura 2.

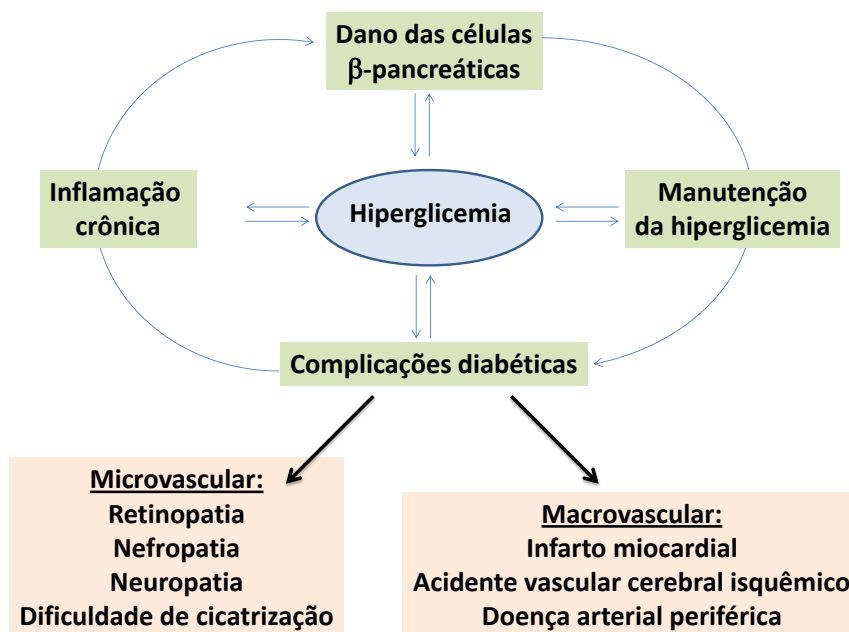


FIGURA 2. EFEITO DA HIPERGLICEMIA NA PATOGÊNESE DO DIABETES E SUAS COMPLICAÇÕES.

Fonte: (VAZZANA *et al.*, 2009) modificado.

Também está bem documentado que alterações no metabolismo de carboidratos observada durante a gestação resulta em numerosas complicações sérias do desenvolvimento fetal. Hiperglicemia fetal, que é uma consequência direta da hiperglicemia materna, estimula a hiperfunção das células β resultando em hiperinsulinemia. Esta última leva à macrosomia fetal e hipoglicemia neonatal. Contudo, hiperglicemia materna, especialmente durante o primeiro trimestre de gravidez, é considerado ser um fator teratogênico. Hiperglicemia nos períodos finais da gestação é responsável por anormalidades no crescimento fetal e desenvolvimento do sistema nervoso central, organomegalia ou imaturidade do sistema respiratório (BANERJEE *et al.*, 2003; NOLD e GEORGIEFF, 2004).

Desta forma, como a hiperglicemia é o principal fator desencadeante das complicações diabéticas, um marcador para avaliar as concentrações plasmáticas médias da glicemia nestes pacientes é relevante. Bem como métodos para o monitoramento do controle glicêmico durante a gravidez que sejam particularmente sensíveis a qualquer episódio de hiperglicemia. Assim, os marcadores disponíveis para este fim são abordados a seguir pontuando suas vantagens e limitações.

3.5 CONTROLE GLICÊMICO

A concentração plasmática de glicose em indivíduos sem diabetes é mantida estável dentro de intervalos entre 72-108 mg/dL e ajustado para valores inferiores à 126 mg/dL após sobrecarga com carboidrato. Contudo, em pacientes diabéticos este intervalo aumenta para até e além do limiar renal (em torno de 180 mg/dL na maioria das pessoas). Intervenções terapêuticas, como insulina e estimuladores das células β pancreáticas (por exemplo sulfoniluréias e reguladores prandiais) podem também reduzir a concentração plasmática de glicose para intervalos abaixo do normal (MEETOO et al., 1982).

Informação confiável sobre a variação da glicemia permite ao clínico e pacientes avaliar o efeito do tratamento na restauração e manutenção da concentração da glicose sanguínea dentro do intervalo fisiológico. O monitoramento da glicemia permite um ajuste na dieta, exercício e medicação para se atingir um controle glicêmico ótimo, bem como acesso aos riscos de hipo ou hiperglicemia e complicações relacionadas à hiperglicemia crônica (GOLDSTEIN, et al., 2004; RENARD, 2005).

No DM, a hiperglicemia persistentemente prolongada é bastante nociva ao organismo. Existe estreita relação entre as concentrações plasmáticas elevadas de glicose no sangue e surgimento das complicações do diabetes. O descontrole permanente acarreta, no decorrer dos anos, uma série de complicações orgânicas, resultando em danos teciduais, perda de função e falência de vários órgãos (SBD, 2006). A associação entre o diabetes e as complicações micro e macrovasculares são bem conhecidas, como a necessidade de manter forte controle glicêmico com o objetivando a prevenção (MEETOO et al., 1982).

Além disso, tratamento inadequado do diabetes leva ao aumento de taxas de mortalidade perinatal e morbidade nas mães e neonatos (BANERJEE et al., 2003; NOLD e GEORGIEFF, 2004).

Uma variedade de métodos (Tabela 4), com diferentes utilidades e limitações, existem para uso dos clínicos e pacientes para indicar e monitorar o *status* glicêmico (RENARD, 2005).

TABELA 4. MÉTODOS NOVOS E TRADICIONAIS PARA AVALIAÇÃO DO CONTROLE GLICÊMICO

Métodos novos e tradicionais para a avaliação do controle glicêmico	
Métodos tradicionais	Métodos novos
Testes de glicemia	Monitorização contínua da glicose (CGMS - <i>Continuous Glucose Monitoring System</i>)
Testes de HbA1C	Glicemia média estimada (avaliada através de perfis glicêmicos) Variabilidade glicêmica (avaliada através de desvio padrão)

Fonte: Retirado de (SBD, 2008).

O grau de controle glicêmico no paciente diabético tem sido comumente avaliado através de medidas da glicemia de jejum, glicemia após sobrecarga oral de glicose e/ ou glicemia pós-prandial e através da determinação da HbA1C.

A glicemia de jejum é a mais utilizada na avaliação do controle glicêmico; reflete os valores mais baixos de glicemia do dia, sofre a menor variabilidade porém é considerada método pouco sensível para avaliação do perfil da glicose plasmática durante o dia (TUOMILEHTO, 2002).

As determinações da glicemia 2-horas pós-sobrecarga e a glicemia pós-prandial medem os picos atingidos em resposta ao teste com 75 g de glicose oral (TOTG) ou à refeição, e têm sido consideradas equivalentes no que diz respeito ao seu significado fisiopatológico (TUOMILEHTO, 2002).

O ensaio da hemoglobina glicada A1C (HbA1C) está em uso há mais de 30 anos como marcador para controle do diabetes. O monitoramento contínuo da glicemia no diabetes pode comprovar a importância de uma estratégia para o acompanhamento dos pacientes em que o ensaio de HbA1C seja consistentemente não confiável (uso de métodos não padronizados). Se a albumina glicada tornar-se disponível para a rotina laboratorial, esta poderia ser uma alternativa à HbA1C em condições clínicas específicos, como na gravidez, na insuficiência renal crônica, ou processos patológicos que afetam a performance da hemoglobina glicada como marcador para o controle glicêmico (RUBINOW e HIRSCH, 2011).

Além disso, também tem se proposto estratégia diagnóstica alternativa que poderia ser o uso da HbA1C em conjunto com um índice de variabilidade glicêmica, como o 1,5 anidroglicitol (1,5AG) (YAMANOUCHI, 1989; YAMANOUCHI et al.,

1989; YAMANOUCHI et al., 1996; BUSE et al., 2003; MCGILL et al., 2004; DUNGAN et al., 2006).

O que se propõe no presente trabalho é que múltiplos marcadores sejam utilizados para capturar todo o espectro da variação glicêmica (RUBINOW e HIRSCH, 2011). A figura 3 mostra o comportamento dos principais biomarcadores para o controle glicêmico.

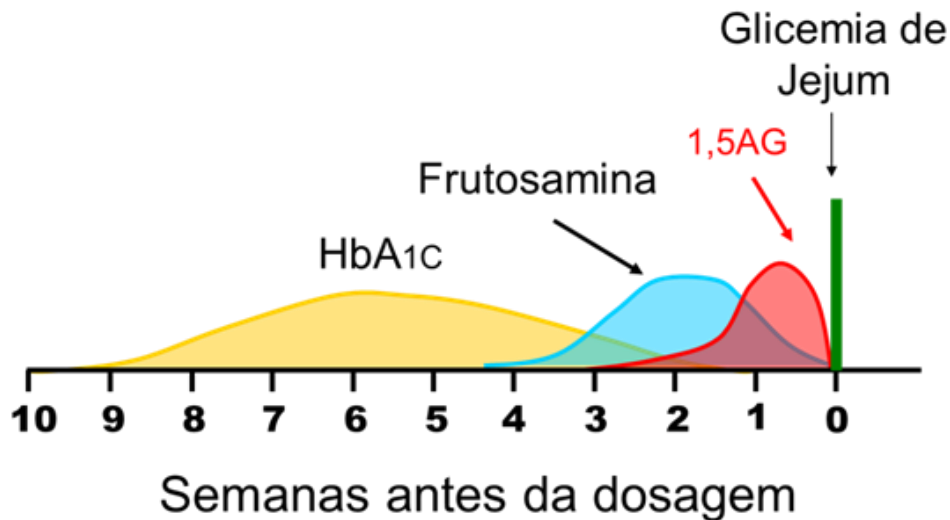


FIGURA 3. COMPARAÇÃO DO TEMPO DE RESPOSTA DE BIOMARCADORES PARA O CONTROLE GLICÊMICO, SEGUNDO (GLYCOMARK®: <http://www.glycomark.com/>).

Os períodos de tempo em semanas indicam a sensibilidade dos biomarcadores para identificar variações no controle glicêmico. A glicemia de jejum, resposta em minutos, o 1,5 anidroglicitol (1,5AG) resposta em dias (24 a 72 horas), frutosamina, resposta em 1 a 3 semanas e hemoglobina glicada (HbA1C), resposta em 4 a 8 semanas.

Parâmetros como HbA1C e frutosamina não detectam picos agudos hiperglicêmicos (BONORA et al., 2001). Da mesma forma, mesmo o automonitoramento contínuo falha em revelar flutuações a curto prazo da glicemia que possam estar ocorrendo entre as dosagens (DWORACKA et al., 2005).

3.5.1 Proteínas glicadas

A dosagem de proteínas glicadas, principalmente hemoglobina glicada, é eficaz no monitoramento em longo prazo em pessoas com *Diabetes mellitus*. Sua dosagem fornece um índice retrospectivo integrado das concentrações de glicose

em um período de tempo ampliado e não está sujeito às flutuações observadas quando as concentrações sanguíneas de glicose são dosadas (GOLDSTEIN et al., 1986).

Concentrações das proteínas glicadas são úteis e muito utilizadas, especialmente a HbA1C, para o monitoramento glicêmico a longo prazo (SYED et al., 2008).

3.5.1.1 Hemoglobina Glicada (HbA1C)

Hemoglobina glicada A1C, ou a porcentagem de hemoglobina total que está ligada à glicose fornece uma melhor estimativa da glicemia média do que determinações rotineiras da concentração plasmática de glicose, e é o índice de medida da glicemia crônica mais utilizado (NATHAN et al., 1984; SINGER *et al.*, 1989).

O termo hemoglobina glicada define um grupo de substâncias formadas a partir da reação entre a hemoglobina A (HbA) e um açúcar. O componente mais importante deste conjunto é a fração A1C. O processo de glicação envolve a ligação não enzimática de um resíduo de glicose ao grupo amino terminal (resíduo de valina) de uma ou de ambas as cadeias β da HbA (BUNN, 1981). Por esta razão, obedecendo à nomenclatura química, o termo correto é hemoglobina glicada, devendo ser abandonado o termo hemoglobina glicosilada. A primeira fase da reação entre a glicose e a hemoglobina é reversível e origina um composto intermediário denominado pré-A1C ou base de Schiff. A segunda fase é irreversível e resulta em um composto estável denominado A1C. A membrana da hemácia é altamente permeável à molécula de glicose, fazendo com que a hemoglobina presente no seu interior fique exposta praticamente à mesma concentração da glicose plasmática. A glicação ocorrerá em maior ou menor grau, conforme a concentração plasmática de glicose. A hemoglobina glicada permanece dentro das hemácias e a sua concentração, num determinado momento, dependerá, basicamente, da taxa glicêmica média e da meia-vida das hemácias (aproximadamente 120 dias). Assim, a HbA1C representa um marcador de concentração sanguínea média de glicose em um período entre 8 a 12 semanas,

representando assim um indicador de longo período do status glicêmico quando comparado a glicemia de jejum (MORTENSEN e CHRISTOPHERSEN, 1983).

A grande vantagem da HbA1C está no fato de não sofrer grandes flutuações, bem como estar diretamente relacionada ao risco de complicações em pacientes com DM tipos 1 e 2, sendo o teste mais indicado na quantificação do risco de complicações crônicas em pacientes diabéticos.

O *Diabetes Control and Complications Trial* (DCCT) e o *United Kingdom Prospective Diabetes Study* (UKPDS) concluíram que o risco de complicações em pacientes diabéticos é diretamente proporcional ao controle glicêmico, determinado através dos níveis de HbA1C (FRAYLING et al., 2008). Além disso, tem se mostrado que concentrações superiores ao intervalo que corresponde ao sub-diabetes (6,0 a 6,5%) são preditores do risco do desenvolvimento do diabetes tipo 2 e de doença cardiovascular (KHAW e WAREHAM, 2006; PRADHAN et al., 2007). Por estas razões um Comitê Internacional de Especialistas recentemente propôs uma revisão do critério diagnóstico para o diabetes, recomendando que a HbA1C possa ser um melhor meio diagnóstico do que as dosagens de glicose (jejum e/ou pós sobrecarga) e que deve ser adotada como critério diagnóstico (FRAYLING et al., 2008; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010).

Embora o valor de HbA1C represente a estimativa global do sucesso do tratamento no controle do diabetes durante alguns meses atrás, indica apenas um histórico da medida integrada da concentração da glicose sanguínea, não refletindo variações específicas ou a extensão das excursões (duração dos picos) nas concentrações de glicose durante aquele período (OWENS et al., 2004). Como o resultado da HbA1C é uma média do valor de glicose ao invés de uma medida em tempo real, sugerindo bom controle glicêmico. Alterações freqüentes da concentração de glicose, caracterizam um pobre controle glicêmico que não são detectados no dia-a-dia da vida do paciente (HAY et al., 2003). Ou seja, a HbA1C fornece a medida quantitativa da média de exposição à glicose sobre um período de tempo, não indicando a variabilidade glicêmica (a frequência e magnitude das excursões (marés, picos) glicêmicas) que uma pessoa com diabetes pode experimentar durante um determinado dia (BONORA et al., 2001; HAY et al., 2003). A potencial implicação da variabilidade glicêmica tem sido enfatizada por achados do Diabetes Control and Complications Trial (DCCT). Este grupo de pesquisa especula que as complicações podem ser altamente dependentes da extensão das

excursões glicêmicas pós-prandial que as pessoas diabéticas tratadas convencionalmente estão provavelmente mais expostas que grupos de pacientes em tratamento intensivo (DCCT, 1995). Num estudo realizado pelo DCCT, foi demonstrado que um valor de HbA1C de 7,3%, indicou que o controle glicêmico foi longe do fisiológico, pois estava associado com alta frequência de hipoglicemia severa (DCCT, 1993).

Uma vez que um monitoramento ótimo de diabetes envolve controle da concentração de glicose em jejum, pré-prandial e pós-prandial, a HbA1C não pode ser utilizada para identificar se níveis glicêmicos anormais de um dado indivíduo são devido primariamente à concentrações plasmáticas de glicose em jejum ou pós-prandial. Em outras palavras, a dosagem de HbA1C sinaliza para a necessidade de mudança de terapia, mas não pode indicar que tipo de mudança é necessária (RENARD, 2005).

Alguns estudos tem mostrado que as concentrações de HbA1C são frequentemente significativamente maiores em pacientes não caucasianos com diabetes (BROWN et al., 2005; KIRK et al., 2006; VIBERTI et al., 2006) ou sem diabetes (SAADDINE et al., 2002) e em intolerantes a glicose (WILLIAM et al., 2007) independentemente do controle de múltiplos fatores que impactuariam na glicemia. Estes dados levantam a questão sobre diferenças etnicas e raciais (WILLIAM et al., 2007; COHEN et al., 2008) na glicação da hemoglobina (WILLIAM et al., 2007), e/ou impacto de hemoglobinas variantes ou sobrevida dos eritrócitos no ensaio de HbA1C (BRY et al., 2001; WILLIAM et al., 2007; COHEN et al., 2008). A tabela 5 lista as condições clínicas que causam inacurácia dos resultados da HbA1C (RENARD, 2005).

TABELA 5. CONDIÇÕES QUE CAUSAM INACURÁCIA NAS DOSAGENS DE HbA1C.

HbA1C fontes de variação
Perda aguda de sangue
Anemia Hemolítica
Certos medicamentos utilizados em pacientes HIV ⁺
Hemoglobinopatias
Hemoglobinas variantes
Aumento do <i>turnover</i> dos eritrócitos
Transfusões sanguíneas
Anemia ferropriva
Hipertrigliceridemia
Hiperbilirrubinemia
Uremia (Hb carmabilada → Hb e ureia)
Altas doses de ácido acetilsalicílico (Hb acetilada)
Suplementos dietéticos
Opiáceos
Abuso de álcool
Vitaminas C e E (inibem a glicação de proteínas)

Fonte: RENARD, 2005

As taxas diferenciais de glicação podem produzir variabilidade nos valores da HbA1C, e as taxas de glicação protéica parecem variar numa extensão muito maior entre os indivíduos do que se previa historicamente. Quando os valores de HbA1C são sistematicamente comparados com os valores médios de glicemia gerados pelo monitoramento contínuo de glicose, o intervalo de correspondência da glicemia média para uma HbA1C de 8% alcança 170 mg/dL (NATHAN et al., 2008), esta variabilidade aumenta ainda mais em concentrações maiores de HbA1C e pode prover substancialmente da heterogeneidade nas taxas de glicação. Em população pediátrica, os pacientes com DM1, uma equivalência dos valores de glicemia média correspondem à concentrações de HbA1C de 7,6% entre indivíduos com baixa glicação e 9,6% entre os com alta glicação (HEMPE et al., 2010). Contudo, a glicação diferenciada não é apenas fonte de variabilidade na dosagem de HbA1C, mas possivelmente um preditor independente de complicações microvasculares

relacionadas ao diabetes. Cohen e colaboradores (2008) reportaram que o intervalo de glicação - a diferença entre a hemoglobina glicada e frutamina glicada - está associada com risco de incidência de retinopatia na população diabética. A glicação diferenciada pode ter uma base hereditária substancial. O índice de glicação da hemoglobina também tem sido reportado como um preditor independente de complicações microvasculares, embora tenha sido refutado com base na forte correlação entre os valores de HbA1C e o índice de glicação da hemoglobina (LACHIN et al., 2007).

Mais recentemente, devido as implicações do uso da HbA1C no uso diagnóstico do diabetes, o efeito da raça em suas concentrações tornam-se mais importantes. Em valores comparáveis de glicemia média, os valores de HbA1C variam entre 0,2-0,65% entre diferentes grupos raciais. Estes achados sugerem que a HbA1C de 6,5% poderia ser um limite muito sensível em algumas populações e um limiar inadequado para outras (RUBINOW e HIRSCH, 2011). Adicionalmente, o DCCT (1993) não avaliou a possibilidade do risco das complicações microvasculares ser conferido por valores variantes de HbA1C entre as diferentes populações, pois incluiu apenas pacientes com DM1 de uma população homogênea. Este viés foi ainda realçado pela exclusão de participantes do estudo com eletroforese de hemoglobina anormais, levantam a questão da aplicabilidade dos achados do DCCT em pacientes não brancos. No estudo realizado pelo UKPDS similarmente falta heterogeneidade racial, uma vez que 81% dos participantes eram brancos, 10% era asiáticos e 8% africanos caribenho (RUBINOW e HIRSCH, 2011).

Outra limitação do ensaio de HbA1C, quando utilizado como fonte única para acessar o controle glicêmico, está relacionado à natureza do ensaio e ao intervalo temporal entre a mudança de terapia e uma mudança detectável na HbA1C. Este intervalo de tempo é significativo em condições específicas, tais como gravidez, onde o efeito das intervenções deve ser avaliado o mais rápido possível (RENARD, 2005).

Como ocorre com a maioria dos parâmetros bioquímicos, o intervalo de referência para a HbA1C depende da metodologia utilizada. Existem mais de 100 metodologias diferentes que podem ser utilizadas para a determinação das hemoglobinas glicadas. Estes métodos separam as hemoglobinas glicadas das hemoglobinas não glicadas utilizando técnicas baseadas na diferença de cargas (cromatografia de troca iônica, HPLC, eletroforese, isoeletrofocalização), diferenças

estruturais (cromatografia de afinidade e imunoensaios), ou análise química (fotometria e espectrofotometria) (GOLDSTEIN et al., 1997). Independentemente do método utilizado, o resultado é expresso em porcentagem da hemoglobina total. A seleção do método pelo laboratório é influenciada por vários fatores, incluindo volume de amostra, população dos pacientes, e custo (GOLDSTEIN et al., 1997).

Com a finalidade de minimizar os problemas de interpretação dos resultados da HbA1C pelas diferentes metodologias foi criada nos EUA uma entidade denominada NGSP (<http://www.missouri.edu/diabetes/ngsp.html>). Esse programa avalia os métodos disponíveis no mercado mundial com o intuito de verificar se produzem resultados compatíveis com a metodologia utilizada pelo DCCT. Caso essa equivalência não seja observada, avalia-se a possibilidade de ser estabelecido um cálculo matemático para correção do resultado, tornando o método rastreável em relação ao utilizado no DCCT. A Associação Americana de Diabetes (ADA) recomenda o uso do ensaio da HbA1C que é certificado pelo National *Glycohemoglobin Standardization Program* (NGSP) e rastreável pelo DCCT (GOLDSTEIN et al., 2004). Já o Posicionamento Oficial para Hemoglobina Glicada (2009) recomenda que os laboratórios clínicos utilizem, preferencialmente, os métodos de ensaio certificados pelo NGSP, com rastreabilidade de desempenho analítico do método utilizado no DCCT. Além disso, é preconizado que os laboratórios que realizam essa rotina participem de programas de ensaios de proficiência específicos para a HbA1C implementados por entidades oficiais, como, por exemplo a Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML).

Existem numerosas metodologias para dosagem da HbA1C, resultando em ampla variabilidade nos valores referenciais. No entanto, o valor de 7% como nível adequado para controle do diabetes foi validado pelos estudos do DCCT com base no método de CLAD.

Considerando o método de cromatografia líquida de alto desempenho (CLAD) ou *high performance liquid chromatography* (HPLC), o intervalo de referência da HbA1C nos indivíduos não-diabéticos é de 4% a 6%. Concentrações elevadas de HbA1C não fazem, obrigatoriamente, diagnóstico de *Diabetes mellitus* (DM), mas permitem a estimativa da glicemia média pregressa, medida esta que possibilita uma avaliação da qualidade do controle glicêmico (pobre ou satisfatório) (SUMITA e ANDRIOLO, 2008).

Foi desenvolvido um ensaio para HbA1C utilizando-se anticorpos formados contra produtos de Amadori de glicose (ligação cetoamino) e os primeiros resíduos de aminoácidos (4 a 8) na região N-terminal da cadeia β da hemoglobina (ENGBAEK et al., 1989; JOHN, 1996). Outro método amplamente usado que quantifica a HbA1C em sangue total por inibição da aglutinação por látex. O aglutinador, um polímero sintético contendo múltipla cópias da porção imunoreativa da HbA1C, ligando ao anticorpo monoclonal anti-HbA1C que está aderido em partículas de latex. Esta aglutinação produz espalhamento de luz, detectada como aumento de absorbância. A HbA1C da amostra dos pacientes compete pelo anticorpo do latex, inibindo a aglutinação, diminuindo assim o espalhamento de luz. Este ensaio é usualmente calibrado para fornecer resultados que correspondam e se correlacionem com os valores de HPLC. Os anticorpos não reconhecem intermediários lábeis ou outras hemoglobinas (como HbA1A ou HbA1B) porque são requeridos para a ligação tanto a seqüência de aminoácidos específica e cetoamina com glicose. Similarmente, várias hemoglobinas variantes, como HbF, HbA2, HbS e hemoglobina carbamilada, não são detectadas (BRY et al., 2001).

Ao interpretar o resultado da dosagem da HbA1C, é necessário considerar que os níveis médios mais recentes da glicemia são os que mais influenciam no valor da HbA1C. Aproximadamente 50% da HbA1C são formados no mês precedente ao exame, 25% no mês anterior a esse e os 25% remanescentes, no terceiro ou quarto mês que precede a coleta da amostra (SBD, 2008).

Resumidamente, para um paciente individual, os problemas levantados reforçam a limitação do uso apenas da HbA1C para o diagnóstico, acesso a adequação tratamento ou predição das complicações associadas aos diabetes. Baseando-se na população, a dosagem da HbA1C permanece confiável e um índice importante com considerável utilidade. Além disso, permanece como o único índice que significativamente prediz as complicações associadas ao diabetes. Em base individual, contudo, dados disponíveis tornam mandatório revisar a abordagem do uso da HbA1C na prática clínica. Os valores da HbA1C devem ser interpretados com cautela e baixos limiares devem levantar a suspeita de valores enganosos. Como já demonstrado, os valores de HbA1C não podem substituir os dados de monitoramento primário da glicemia em casa, com o entendimento que esta tecnologia possui suas próprias limitações na acurácia e precisão. O papel da

HbA1C no diagnóstico do diabetes permanece incerto, particularmente em certas populações de pacientes (RUBINOW e HIRSCH, 2011).

3.5.1.2 Frutosamina

Em certos pacientes com *Diabetes mellitus* (diabetes gestacional, mudança de tratamento), ensaios mais sensíveis que a hemoglobina glicada podem ser necessários para identificar alterações em menor tempo da concentração média da glicose. Ligações não enzimáticas da glicose em grupos amino em outras proteínas além da hemoglobina (proteínas plasmáticas, proteínas de membrana, do cristalino das lentes oculares) para formar cetoaminos compostos, também ocorrem. Pelo fato do *turnover* (contínua síntese e degradação) das proteínas plasmáticas ser menor que dos eritrócitos (o tempo de meia vida da albumina circulante é de aproximadamente 20 dias), a concentração da albumina plasmática glicada reflete o controle glicêmico de um período de 2 a 3 semanas. Assim, tanto a deterioração do controle quanto a melhora do tratamento são identificados de forma precoce com a determinação da frutosamina, quando comparado a HbA1C (CEFALU et al., 1983; 1988; 1991; 1993; BAKER et al., 1984; 1985; KOCH, 1990; TAHARA e SHIMA, 1995).

Frutosamina é o nome genérico dado a todas as proteínas glicadas, das quais a albumina é a fração plasmática majoritária, depois da hemoglobina. O nome refere-se à estrutura do produto de rearranjo formado pela interação da glicose com grupos ϵ -amino nos resíduos de lisina da albumina. Análogo à HbA1C, a medida da frutosamina pode ser usada como um índice da concentração média de glicose sanguínea em um período estendido de tempo, mas aproximadamente $\frac{1}{4}$ do período avaliado pela HbA1C.

Embora a dosagem de frutosamina possa ser automatizada, apresente menor custo e seja mais rápida que a dosagem de HbA1C, não há consenso da sua utilidade clínica. Alguns estudos demonstraram que a dosagem de frutosamina não é um ensaio confiável e não foi avaliado suficientemente para o uso de rotina clínica (WINDELER e KÖBBERLING, 1990). Em contraste, uma revisão basicamente dos mesmos dados concluíram que a frutosamina poderia fornecer informação útil no monitoramento do diabetes (ARMBRUSTER, 1987).

Desde a introdução do ensaio original de frutossamina em 1983 (JOHNSON et al., 1983; BAKER et al., 1986) houve modificações substanciais produzindo ensaios de segunda geração melhorando os resultados (SCHLEICHER e VOGT, 1990). Algumas evidências clínicas sugerem que a frutossamina poderia ser útil em diabéticos idosos (CEFALU et al., 1993) e no diabetes gestacional (KENNEDY et al., 1998). O potencial papel da dosagem de frutossamina de segunda geração para um monitoramento do controle glicêmico rápido, confiável, de menor custo e tecnicamente simples ainda precisa ser avaliado. O valor clínico da frutossamina ainda não foi firmemente estabelecido e não há evidências convincentes que relacionam sua concentração as complicações crônicas do diabetes (SACKS et al., 2002).

Como a dosagem de frutossamina monitora mudanças na glicemia a curto prazo diferentemente da HbA1C, poderia ter um papel em conjunto com a HbA1C, ao invés de substituí-la. Adicionalmente, a dosagem de frutossamina poderia ser útil em pacientes com hemoglobinas variantes (HbS ou HbC) que estão associadas a diminuição no tempo de meia vida dos eritrócitos, quando a hemoglobina glicada tem pequeno valor.

Mudanças grosseiras na concentração de proteínas e tempo de meia vida podem ter grande efeito na proporção de proteína que é glicada. Assim os resultados de frutossamina podem ser invalidados em pacientes com síndrome nefrótica, cirrose hepática, ou disproteinemias, ou ainda, após mudanças rápidas em reações de fase aguda. Relatos iniciais indicavam que na ausência de mudanças significativas na concentração das proteínas plasmáticas, o resultado de frutossamina era independente destes valores (BAKER et al., 1983). Contudo, esta observação tem sido questionada por outros pesquisadores, que recomendam que os valores de frutossamina sejam corrigidos pela concentração de proteínas. Esta controvérsia precisa ser resolvida. O que é aceito de maneira geral é que o ensaio não deve ser realizado quando a concentração plasmática de albumina esteja menor que 3,0 g/dL. Embora inicialmente havia se postulado que o ensaio de frutossamina substituiria o TOTG, não há papel para frutossamina no diagnóstico do diabetes. Tem sido reportado que o ensaio de segunda geração de frutossamina teria sensibilidade e especificidade próximo à 80% na triagem de pacientes com diabetes gestacional (HUGHES et al., 1995), mas esta informação requer mais estudos.

3.5.2 Glicose urinária

Historicamente, o monitoramento da glicose urinária tem sido útil na indicação de episódios de hiperglicemia durante o tempo de excreção urinária correspondente. O teste de glicose urinária é não invasivo, de baixo custo e de fácil realização para a maioria dos pacientes (ALLEN et al., 1990). O limiar renal para glicose em indivíduos normais e adultos correlaciona-se com uma concentração plasmática de glicose de aproximadamente de 180 mg/dL, mas sujeita a uma ampla variação individual (GOLDSTEIN et al., 2004). Além da variação do limiar renal de paciente para paciente, condições que aumentam (gravidez) ou diminuem (idade) o limiar renal frequentemente levam a resultados super ou subestimado. Embora a glicosúria indique picos de hiperglicemia acima do limiar renal que ocorreram durante o intervalo, variações hipoglicêmicas abaixo do limiar renal não são identificadas. Similarmente, um valor negativo de glicose na urina não diferencia hipoglicemia de euglicemia e hiperglicemia branda ou moderada, levando assim a limitações do teste na prevenção. Além disso, os valores de glicose urinário não representam a medida da concentração de glicose no momento do teste, mas uma concentração média durante o intervalo desde a última micção (GOLDSTEIN et al., 2004).

Embora o teste de urina possa ser utilizado em pacientes pobremente controlados ($HbA1C > 9,5\%$) onde testes mais sensíveis possam não adicionar informação adicional, o controle glicêmico adequado requer tecnologia mais acurada. Devido a sua limitada confiabilidade e falta de precisão, o teste de glicose na urina não pode ser recomendado para o monitoramento intensivo do diabetes que tem por objetivo valores próximos a normoglicemia (ANAES, 1999; GOLDSTEIN et al., 2004).

3.5.3 Hiperglicemia pós-prandial

O risco das complicações provenientes da hiperglicemia geralmente são mensuradas pela $HbA1C$, um valor laboratorial que estima a média da concentração sanguínea dos últimos 2-3 meses. Embora $HbA1C$ seja um importante marcador do risco de complicações, um teste realizado em 1995 pelo grupo Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) afirma que ela não expressa o grau total de

hiperglicemia, sugerindo que o risco de complicações pode ser mais atribuído às excursões de glicemia resultando na hiperglicemia pós-prandial (HGPP) (DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP, 1995).

A American Diabetes Association (ADA) tem definido como uma HGPP os níveis de glicose no sangue acima de 180 mg/dL 2 horas após as refeições, enquanto que a Associação Americana de Endocrinologia define como o nível de glicose acima de 140 mg/dL (AACE, 2007; ADA, 2007). A hiperglicemia pós-prandial ocorre quando a glicose sanguínea sobe acima do que é considerado um nível normal de glicose após a refeição e decorre não tanto da resistência à insulina, mas sim da primeira fase de secreção insulínica (GROSS et al., 2003).

A hiperglicemia pós-prandial representa um dos principais fatores de risco cardiovascular. Isso é particularmente importante no diabetes *melittus* (DM), considerando que a primeira causa de morte nestes pacientes são as doenças cardiovasculares, em especial o infarto do miocárdio e AVC (PANZRAM, 1987). Estudos têm mostrado que o risco de morte por doença cardiovascular e mesmo de mortes por outras causas está aumentado naqueles indivíduos com alteração na glicemia de 2 horas, quer sejam portadores de tolerância à glicose diminuída, quer de DM, e que, ao mesmo tempo, apresentam glicemia de jejum normal. Indivíduos normoglicêmicos ao jejum, porém com glicemia de 2 horas aumentada, apresentavam nítido gradiente de elevação na mortalidade, mostrando que a glicemia pós-sobrecarga tem impacto mais significativo no risco cardiovascular. Portanto, conclui-se que em paciente de risco com glicemia de jejum normal é obrigatória a investigação da tolerância à glicose através do TOTG (GROSS et al., 2003).

Em gestantes, tem se mostrado que o crescimento fetal anormal depende não apenas da hiperglicemia crônica mas também das concentrações plasmáticas de glicose pós-prandial. O controle pós-prandial tem sido indicado como uma meta terapêutica para proteção do feto contra macrosomia (JOVANOVIC e PETERSON 1981; VECIANA et al., 1995).

A ADA (American Diabetes Association) recomenda que a glicemia pós-prandial seja monitorada, especialmente quando a glicemia de jejum e HbA1C não forem proporcionais. Inibidores de alfa-glicosidase, glinidas e análogos de insulina de ação ultra-rápida são eficazes em reduzir a glicemia pós-prandial, o que não se sabe é se diminuem complicações crônicas diabéticas (GROSS et al., 2003).

Apesar de usado como marcador de glicemia pós-prandial, a glicemia de 2h pós-sobrecarga oral de glicose apresenta baixa reprodutibilidade. Historicamente, dados obtidos de glicosímetros de pacientes tem sido utilizados como método primário para a avaliação da hiperglicemia pós prandial (HGPP). Contudo, com o advento do monitoramento contínuo de glicose e 1,5-anidroglucitol (1,5AG), existem agora outros meios de avaliar o grau de HGPP.

3.5.4 Glicemia de jejum e auto monitorização da glicose

Uma das principais limitações da glicemia de jejum como parâmetro de controle é que esta não aumenta com a idade e, por isso, torna-se menos sensível ainda para detectar alterações do metabolismo glicídico em indivíduos com mais de 65 anos (GROSS et al., 2003).

O auto-monitoramento de glicose utilizando glicosímetros está disponível desde os anos 70, contudo apresentam algumas limitações para avaliar hiperglicemia pós prandial (HGPP). Entre as limitações encontram-se a variação no grau de acurácia dos glicosímetros e a necessidade de pelo menos 5-10 medidas por dia para se poder calcular o desvio padrão dos valores de glicose. O monitoramento contínuo da glicose parece ser o mais útil para se obter uma glicemia fidedigna da HGPP, contudo o problema de acurácia persiste. Além disso, o monitoramento contínuo de glicose, realizado através do uso de glicosímetros, requer uma educação extensiva para usá-la e pode ser um tanto técnica para a média dos pacientes com diabetes.

Diferentes marcas de glicosímetros e várias plataformas de software tornam difícil para os pacientes armazenar todos os dados e compará-los. Bem como, glicosímetros variam individualmente em precisão em até 15%, o que pode atrapalhar os resultados de um mesmo paciente e de paciente para paciente (JOHNSON e BAKER, 2001). Os resultados são valiosos se houverem leituras suficientes, mas às vezes o paciente só dosa na presença de alguns sintomas, o que torna os valores menos representativos.

3.5.5 O 1,5-anidroglucitol (1,5AG)

O 1,5-anidroglucitol (1,5AG) foi descrito inicialmente na planta *Polygala senega* em 1888. Sua estrutura química foi identificada em 1943 (Figura 4), e a presença do composto no sangue humano, foi mostrada em seguida (PITKÄNEN et al., 1980; YAMANOUCHI, 1989).

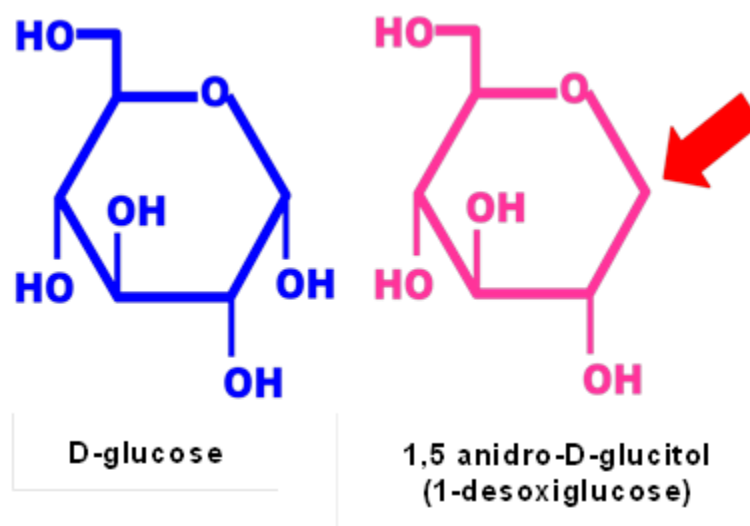


FIGURA 4. ESTRUTURA QUÍMICA DA D-GLUCOSE E DO 1,5 ANIDROGLUCITOL. A seta indica o carbono sem o grupo hidroxil no 1,5AG que o diferencia da glucose. Fonte: Glycomark® - site <http://www.glycomark.com/>

O 1,5AG é outro marcador de glicemia, um poliol plasmático de ocorrência natural na dieta que é mantido constante durante a normoglicemia (YAMANOUCHI et al., 1992) através da filtração e reabsorção renal (YAMANOUCHI, 1989).

O 1,5AG é um monossacarídeo de seis de carbonos, especificamente, uma forma de 1-deoxi-glicose, não metabolizável. A função fisiológica e o metabolismo do 1,5AG não está bem definido. Evidências sugerem que 1,5AG se origina principalmente da dieta, com uma pequena (aproximadamente 10%) mas significativa contribuição da síntese endógena, contudo esse mecanismo ainda é desconhecido (YAMANOUCHI et al., 1992; TAJIMA et al., 1993). Em geral, cereais, carnes de gado e porco, contém relativamente altos níveis de 1,5AG e grãos de soja contém um incomum alto nível do composto. Apesar de ser de fonte predominantemente dietética, a concentração de 1,5AG é mantida constante devido ao grande pool mantido no organismo, por ser inerte metabolicamente e posuir tempo de meia vida longo (YAMANOUCHI, 1989; YAMANOUCHI et al., 1989; YAMANOUCHI et al., 1992).

Normalmente, o 1,5AG filtrado pelo o rim é praticamente todo reabsorvido (YAMANOUCHI, 1989). Contudo, quando as concentrações glicêmicas ultrapassam o limiar renal, ocorre redução das concentrações plasmáticas de 1,5AG, devido à inibição competitiva com a glicose pela reabsorção tubular proximal (Figura 5).

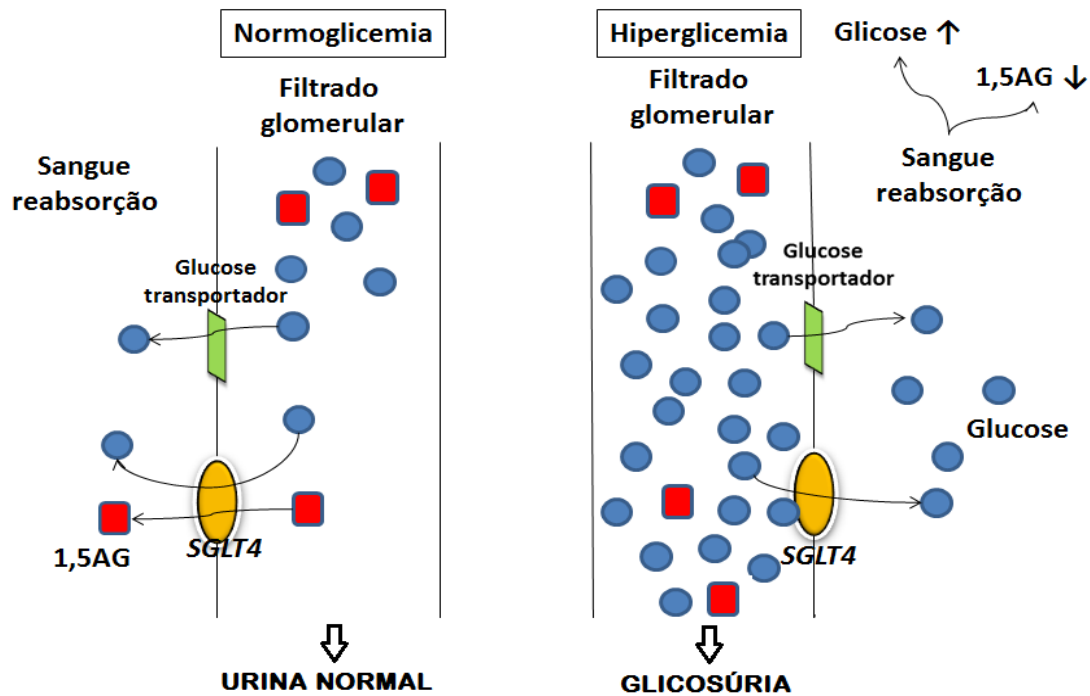


FIGURA 5. MODELO DA REABSORÇÃO TUBULAR DO 1,5AG E GLICOSE EM CONDIÇÕES DE NORMO- E HIPERGLICEMIA

Em condições de normoglicemia a glicose (círculos azuis) e o 1,5 anidroglicitol (quadrados vermelhos) são reabsorvidos do filtrado glomerular através dos transportadores tubulares de glicose e SGLT4 (transportador de manose com afinidade para 1,5AG). Nesta condição os transportadores recuperam quase totalmente a glicose e o 1,5AG filtrados, sendo perdido na urina quantidades desprezíveis.

Na hiperglicemia (glucose > 180 mg/dL), o excesso de glicose presente nos túbulos compete com o 1,5AG pelos transportadores tubulares e como esta presente em concentração muito elevada é reabsorvida, consequentemente provocando a eliminação do 1,5AG pela urina. A resultante na hiperglicemia é a elevação da glicose no sangue com a concomitante redução do 1,5AG.

Fonte: Adaptado de (DUNGAN, 2008).

A alteração dos níveis plasmáticos de 1,5AG depende da duração e magnitude da glicosúria, e a taxa de 0,3g/mL/dia é recuperada quando a normoglicemia é restabelecida. Assim, o 1,5AG responde rápida e sensivelmente às

excursões glicêmicas, refletindo elevações transitórias da glicose dentro de poucos dias (YAMANOUCHI et al., 1992; YAMANOUCHI et al., 1996) o que permite sua reavaliação dentro de 1 a 2 semanas (JANUSZEWSKI et al., 2012) devido a sua estabilidade, o grande pool armazenado nos tecidos e ao seu tempo de meia-vida (MORGAN, 1994). A vantagem em relação à HbA1C estaria em não precisar esperar 3 meses para reavaliar os valores, mantendo um controle mais restrito e consequentemente mais eficaz.

O 1,5AG plasmático tem sido proposto como um marcador para a hiperglicemia pós-prandial. A sensibilidade deste marcador em responder rapidamente a variações séricas da glicose, reflete com precisão elevações transitórias da glicose ao longo de poucos dias, 24-72 horas (YAMANOUCHI et al., 1992; YAMANOUCHI et al., 1996). Recentemente, alguns pesquisadores tem sugerido que o 1,5AG é uma dosagem plasmática adequada, simples e pode ser realizada ao acaso para a triagem de diabetes devido suas concentrações diminuírem em diabéticos recém diagnosticados, bem como naqueles com muito tempo da doença (AKANUMA et al., 1981; YOSHIOKA et al., 1983; KAMETANI et al., 1987; YAMANOUCHI et al., 1988; YAMANOUCHI et al., 1989).

Estudos prospectivos têm sido realizados para avaliar o valor de uma única dosagem plasmática do 1,5AG em uma grande triagem populacional para diabetes e intolerância a glicose. Em um número pequeno de estudos, o valor médio de 1,5AG em indivíduos não diabéticos encontra-se entre 21,7-24,9 µg/mL e em pacientes diabéticos entre 1,97-14,9 µg/mL (YAMANOUCHI, 1987; PITKÄNEN e PITKÄNEN 1990; YAMANOUCHI et al., 1991; ROBERTSON et al., 1993).

O uso do 1,5AG para diagnóstico do DM é controverso (YAMANOUCHI et al., 1991; ROBERTSON et al., 1993). Embora os valores médios da população saudáveis e de diabéticos sejam significativamente diferentes, muito valores sobrepostos são observados entre estes grupos (FRATTALI e WOLF, 1994; MCGILL et al., 2004). Em contraste a Yamanouchi e colaboradores (1991), Robertson e colaboradores (1993) concluíram que a acurácia diagnóstica foi pobre em qualquer limiar de concentração do 1,5AG. As razões que levariam a estas discrepâncias não são imediatamente aparentes, uma vez que os coeficientes de variação analíticos (CVs interensaio) foram similares em ambos os estudos e o mesmo método (microcoluna/piranoase oxidase) empregado. A explicação por diferenças étnicas é

menos provável devido a concordância dos valores do controle em ingleses e outras áreas geográficas, incluindo as Ilhas Maurício (FRATTALI e WOLF, 1994).

Contudo, Herman e colaboradores (2009) demonstraram uma diferença significativa nos valores de 1,5AG entre populações caucasianas e asiáticas ($p < 0,01$). A população das Ilhas Maurício é composta de indivíduos de várias nacionalidades, sendo a maioria indiana (cerca de 68%) e os demais europeus, africanos, chineses. Frattali e Wolf (1994) acreditam que a seleção de pacientes com maior grau de glicosúria na população hospitalizada comparada a pacientes externos assintomáticos poderia ter gerado as diferenças (*bias*) no trabalho de Robertson e colaboradores (1993). Pacientes assintomáticos provavelmente teriam glicosúria mais significativa do que pré-diabéticos assintomáticos, conseqüentemente, mais 1,5AG seria perdido na urina no primeiro grupo devido a competição entre a glicose e 1,5AG pela reabsorção renal (YAMANOUCHI et al., 1986; 1988; KAMETANI et al., 1987; YAMANOUCHI e AKAOKA, 1990), mas infelizmente não foram avaliados nestes estudos a glicose e 1,5AG urinários.

Embora a utilidade das concentrações plasmáticas do 1,5AG permaneça ambígua, o valor potencial deste biomarcador reside na sua aplicação no monitoramento do controle glicêmico no diabetes. Vários estudos têm mostrado que as concentrações plasmática de 1,5AG no diagnóstico em pacientes DM2 encontram-se baixas e que aumentam com a correção da hiperglicemia, portanto identificando a eficácia terapêutica (KAMETANI et al., 1987; YAMANOUCHI e AKAOKA et al., 1989; UMEDA et al., 1991; YAMANOUCHI et al., 1992).

A taxa diária de recuperação do 1,5AG no plasma foi estimado em 0,3 $\mu\text{g/mL}$ e, na ausência de glicosúria, parece ser independente de peso, sexo, idade, protocolos de tratamento, duração do diabetes ou concentração inicial de 1,5AG no plasma (YAMANOUCHI et al., 1989).

As concentrações plasmáticas de 1,5AG variam inversamente com glicose urinária, glicemia de jejum e HbA1C. Além disso, a variação do 1,5AG ocorre em um intervalo maior (<5,9-9,8 $\mu\text{g/mL}$) do que HbA1C (6-11%) com a correção da hiperglicemia. Claramente, no diabetes tipo 2 as concentrações de 1,5AG são influenciadas pelo controle glicêmico (FRATTALI e WOLF, 1994).

Um controle glicêmico inadequado pode, portanto, ser acompanhado por um significativo aumento absoluto no 1,5AG. Em princípio, o 1,5AG monitorado em série, em escalas de tempo adequadas, pode ser usado para monitorar o sucesso

da intervenção no diabetes, evidenciar o restabelecimento do estado glicêmico, ou para indicar episódios de hiperglicemia (que é evidenciado por uma diminuição do 1,5AG ou na alteração na taxa de reposição de 1,5AG para valores normais) (NOWATZKE et al., 2004).

Contudo, correlação do 1,5AG no DM1 é ambígua. As baixas concentrações plasmáticas de 1,5AG, embora aumentem em pacientes recebendo tratamento com insulina, ainda assim não restauram os valores encontrados em pacientes saudáveis (YOSHIOKA et al., 1983). Pitkänen (1982) reporta que uma infusão contínua subcutânea de insulina por 6-40 meses não normalizam as concentrações plasmáticas de 1,5AG, mesmo atingindo normoglicemia por longo período e valores normalizados de HbA1C. Contudo, Yamanouchi e colaboradores (1992) concluíram que quando um controle estrito da glicemia é atingido e a glicose urinária torna-se indetectável, as concentrações plasmáticas de 1,5AG nos pacientes DM1 aumentam de forma similar que em DM2.

A Figura 3 (página 34) compara os tempos de resposta dos principais marcadores para o controle glicêmico disponíveis na rotina laboratorial.

Assim, um marcador que responda rapidamente e de forma significativa para alterações na glicemia, que é metabolicamente estável, que demonstra baixa variabilidade biológica, e ainda que possa ser facilmente dosado, seria útil na gestão dos pacientes diabéticos (MCGILL et al., 2004).

O 1,5 anidroglicitol vem com a proposta de agregar valor junto aos exames disponíveis para o controle glicêmico, HbA1C principalmente, preenchendo a lacuna no tempo de uso diagnóstico entre as dosagens, representando as variações glicêmicas no período de 24-72 horas (Figura 3).

A quantificação do 1,5AG tem como princípios metodológicos:

- 1) Espectrometria de massas
- 2) Cromatografias
- 3) Enzimático-colorimétrico

Os métodos utilizados para a dosagem do 1,5AG se baseiam em duas etapas. No caso dos métodos cromatográficos, seja Gás, Gás-Líquido ou HPLC, deverá passar por uma etapa anterior para remoção das substâncias interferentes na amostra (glicose). A HPLC já foi testada associada à espectrometria de massa (LC-MS e HPLC). Estas metodologias embora sensíveis, são trabalhosas,

consumindo tempo e, portanto considerados impróprios para exame na rotina clínica (MORGAN, 1994).

Fukumura e colaboradores (1994) e Tanabe e colaboradores (1994) introduziram métodos automatizados para a dosagem do 1,5AG, popularizando o ensaio principalmente em laboratórios japoneses, e que inicialmente utilizavam mini colunas na remoção dos interferentes. O ensaio enzimático automatizado utilizado neste estudo foi proposto por Fukumura e colaboradores (1994). O princípio metodológico está mostrado em materiais e métodos (páginas 61 e 62), e atualmente parece ser o mais visado para implantação nas rotinas laboratoriais.

3.6 METAS PARA O CONTROLE GLICÊMICO

A Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2008), acompanhando consensos internacionais, estabelece concentrações sanguíneas de marcadores para o controle glicêmico adequado (Tabela 6). Quando as concentrações destes marcadores são superadas, é necessária a readequação ou mesmo mudança completa do protocolo terapêutico.

TABELA 6. METAS TERAPÊUTICAS PARA O CONTROLE GLICÊMICO.

Marcadores Laboratoriais	Metas terapêuticas		
	SBD	ADA	IFD
Hemoglobina glicada (HbA1C, %)	< 6,5	< 7,0	< 6,5
Glicemia de jejum (mg/dL)	< 110	90 -130	< 100
Glicemia 2-h pós-prandial (mg/dL)	< 110	90 - 130	< 140
Glicemia pré-prandial (mg/dL)	< 140	< 180	-

SBD, Sociedade Brasileira de Diabetes (2008), ADA, American Diabetes Association (2009). IFD, International Federation of Diabetes, 2007.

3.7 TRATAMENTO DO DIABETES

O acompanhamento do paciente diabético é realizado com frequência, sendo que para o controle glicêmico o recomendado é a cada três meses. A primeira recomendação clínica de tratamento ao diagnóstico é a mudança de estilo de vida, com prescrição de dieta e de realização de exercícios físicos, tanto em DM1 como em DM2. Os hipoglicemiantes orais (ou antidiabéticos orais), podem ser utilizados para ajudar os paciente a manter os níveis glicêmicos. A escolha do medicamento deve considerar:

- Os valores das glicemias de jejum e pós-prandial e da HbA1C;
- O peso e a idade do paciente;
- Presença de complicações ou doenças associadas;
- Possíveis interações com outros medicamentos;
- Reações adversas;
- Contraindicações

3.7.1 Hipoglicemiantes orais

Os hipoglicemiantes orais são recomendados aos pacientes que não conseguem manter os níveis glicêmicos dentro do esperado (Tabela 6), apenas com dieta e exercícios físicos.

Os antidiabéticos orais são substâncias que tem a finalidade de reduzir a glicemia e mantê-la normal (jejum inferior a 100 mg/dL e pós-prandial inferior a 140 mg/dL) (SBD, 2009).

São subdivididos em: drogas que incrementam a secreção pancreática de insulina (sulfoniluréias e glinidas); as que reduzem a velocidade de absorção de glicídios (inibidores da alfa-glicosidases); os que diminuem a produção hepática de glicose (biguanidas); e aquelas que aumentam a utilização periférica de glicose (glitazonas) (Tabela 7).

Uma nova classe de drogas tem ação sobre as incretinas, como os hormônios GLP-1 (*glucagon-like peptide-1*) e GIP (*gastric inhibitory peptide*). Os inibidores da dipeptidilpeptidase-4 são os principais representantes desta classe, prolongando a ação das incretinas sendo considerados peptídeos insulínotropicos glicose-dependente. Estas moléculas são capazes de aumentar a secreção de insulina só

quando a glicose se eleva, controlando também o incremento inadequado do glucagon (SBD, 2009).

TABELA 7. HIPOGLICEMIANTES ORAIS DE USO NO TRATAMENTO DO PACIENTE DIABÉTICO TIPO 2.

Medicamentos	Mecanismo de Ação	Redução da glicemia de jejum mg/dL	Redução da HbA1C (%)
Sulfonilureias			
Clorpropamida	Aumento da secreção da insulina	60-70	1,5–2,0
Glibenclamida			
Glipizida			
Gliclazida			
Glimepirida			
Metiglinidas	Aumento da secreção da insulina	20-30	1,0–1,5
Repaglinida			
Nateglinida			
Biguanidas	Reduz a produção hepática de glicose com menor ação da ação insulínica	60-70	1,5–2,0
Metformina			
Inibidores da alfa glicosidase	Retardo da absorção de CHO	20-30	0,5-0,8
Acarbose			
Glitazonas			
Rosiglitazona	Aumento da sensibilidade á insulina	35-65*	0,4-1,4*
Pioglitazona			
Gliptinas	Aumento do nível de GLP-1, com incremento da síntese e secreção da insulina, e redução do glucagon Efeitos anteriormente relatados em resposta á dose farmacológica do análogo do GLP-1 com ação	20*	0,6-0,8*
Sitagliptina			
Vitagliptina			
Exenatida		30*	0,6-1,0*

*Reduções médias das glicemias de jejum e da HbA1C para monoterapia.
Fonte: Adaptado de SBD 2009 e NATHAN et al., 2006

3.7.2 Insulina

Durante muito tempo o paciente diabético foi classificado pelo uso ou não da insulina em seu tratamento: o insulino-dependente para tipo 1 e o não-insulino-dependente para o tipo 2. Essa classificação não é mais utilizada, pois não só os pacientes DM1 necessitam da insulina exógena para manutenção das concentrações glicêmicas ideais. Os pacientes DM2 também podem fazer uso desse recurso, quando não conseguem manter os níveis glicêmicos somente com a dieta e/ou hipoglicemiantes orais.

A insulina exógena é o tratamento recomendado para o paciente diabetes tipo 1, devido a total destruição da célula β e deficiência da insulina nesses pacientes.

A Figura 6 mostra as concentrações plasmáticas e tempo de ação das diferentes insulinas exógenas.

É relevante ressaltar que nem os hipoglicemiantes orais ou os diferentes tipos de insulina são capazes de restituir ao paciente diabético uma homeostasia normal da glicemia.

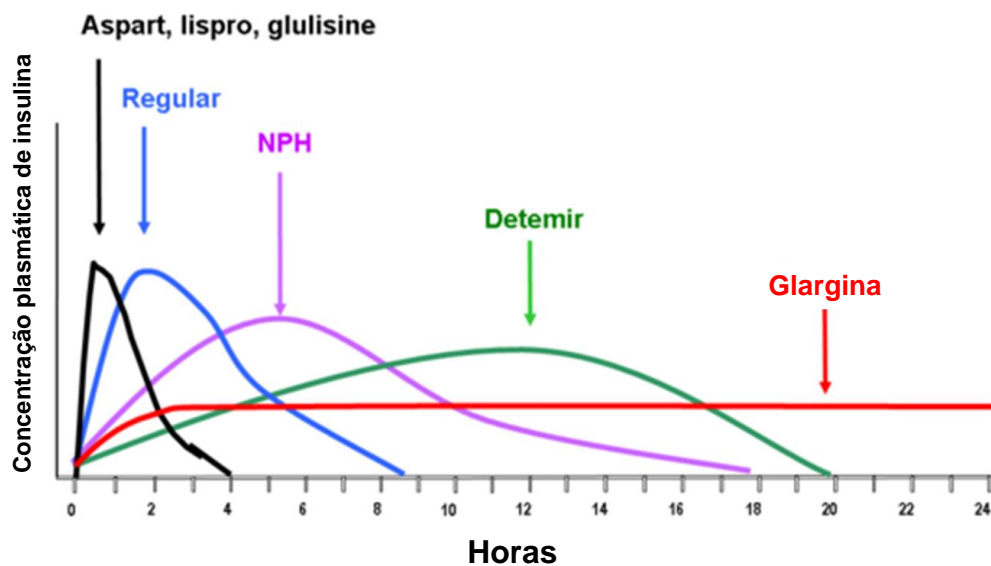


FIGURA 6. CONCENTRAÇÕES PLASMÁTICAS DE INSULINA.

Perfil farmacocinético de insulinas humanas e análogos de insulinas. No eixo da coordenada a ação em horas e na abcissa a concentração plasmática de insulina e seus análogos. Em preto insulinas aspart, lispro e glulisine. Em azul, de 0 a 9, insulina regular. Em rosa, de 0 a 18, insulina NPH. Em verde, de 0 a 20, insulina detemir e em vermelho, com início no 0 e entrando em uma reta, a insulina glargina.

Fonte: (HIRSCH e BROWNLEE, 2005).

4 MATERIAL E MÉTODOS

O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética de Pesquisa em Seres Humanos do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (HC da UFPR), registro nº CEP/SD: 1047.172.10.11, CAAE: 5881.0000091-10 (Anexo I).

4.1 AMOSTRAS

Amostras de soro de 1322 indivíduos, classificadas como saudáveis não gestantes (n=539), diabéticos tipo 1 (n=56), tipo 2 (n=169), gestantes saudáveis (n=281) e gestantes com diabetes gestacional (n=277) foram estudadas.

A caracterização do diabetes tipo 1 e 2 foi realizada pelos critérios estabelecidos pela Associação Americana de Diabetes (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012 e SBD 2009). Para os estudos com diabetes gestacional, os critérios para caracterização dos grupos controle (saudáveis) e DMG foram obtidos da Associação Americana de Diabetes (SBD, 2009; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2010).

As amostras de sangue e soro dos pacientes foram coletadas, durante os exames de rotina, conforme o protocolo do serviço de atendimento aos pacientes do laboratório de Análises Clínicas do HC, entre março e novembro de 2011, não sendo necessária coleta específica para o projeto em tela. Os dados antropométricos, clínicos e laboratoriais foram obtidos nos prontuários dos pacientes e através do serviço de informação Hospitalar do HC (SIH). Aos pacientes diabéticos tipos 1 e 2 foi aplicado questionário para caracterizar variáveis antropométricas e clínicas, e assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, aprovado pelo Comitê de ética. O questionário e o Termo de Consentimento aplicado estão nos Anexo II e III.

Os indivíduos do grupo controle (não gestantes, saudáveis) foram obtidos do Banco de Sangue do Hospital de Clínicas da UFPR (Biobanco), todos considerados aptos para doação pelos critérios do referido serviço (todas as amostras com sorologia positiva para qualquer dos ensaios exigidos para doação, foram excluídas).

As amostras, dados clínicos e laboratoriais das pacientes gestantes saudáveis foram coletadas no Laboratório da Prefeitura Municipal de Curitiba, e as pacientes com diabetes gestacional no Serviço de Endocrinologia e Metabologia do Hospital de Clínicas de UFPR (SEMPR). Os dados destas amostras estão depositados no banco de dados do Laboratório de Bioquímica Clínica da UFPR, coletados pela doutoranda Izabella C.R. Santos, em projeto devidamente aprovado pelo Comitê de Ética da UFPR (**CEP/SD: 565.102.08.06 e CAAE: 0135.0.208.091-08**).

4.2 CRITÉRIOS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS

Na tabela 8 é apresentado um sumário dos critérios utilizados para a classificação dos grupos em estudo.

TABELA 8. CRITÉRIOS PARA CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS EM ESTUDO.

Características	Grupos	Crítérios*
Estudo A**	Controle (Saudáveis)	Glicemia jejum <100 mg/dL
	DM1 DM2	Glicemia de jejum ≥ 126 mg/dL ou TOTG 2-horas após 75 g ≥ 200 mg/dL, ou HbA1C $\geq 6,5\%$
Estudo B (Gestantes)	Controle (Saudáveis)	Glicemia de jejum <86 mg/dL ou Glicemia 2-h após 75g <140 mg/dL
	DMG	Glicemia de jejum ≥ 110 mg/dL, ou Glicemia 2-h após 75g ≥ 140 mg/dL

*Critérios da Sociedade Americana de Diabetes (ADA, 2012) e Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD, 2009).

** Estudo A, homens e mulheres (não-grávidas); Estudo B, gestantes

TOTG 2-h glicemia 2-horas após dose oral de 75g de glicose, durante teste oral de tolerância à glicose.

Para caracterizar a hipertensão foram aplicados os critérios contemplados na VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial de 2010 (DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, VI, 2010), em que se considera a pressão alterada em adultos quando as medições são ≥ 140 mmHg para a pressão sistólica (PAS) e/ou ≥ 90 mmHg para a diastólica (PAD), ou o paciente utiliza agentes antihipertensivos.

A figura 7 representa a classificação das amostras de forma esquemática.

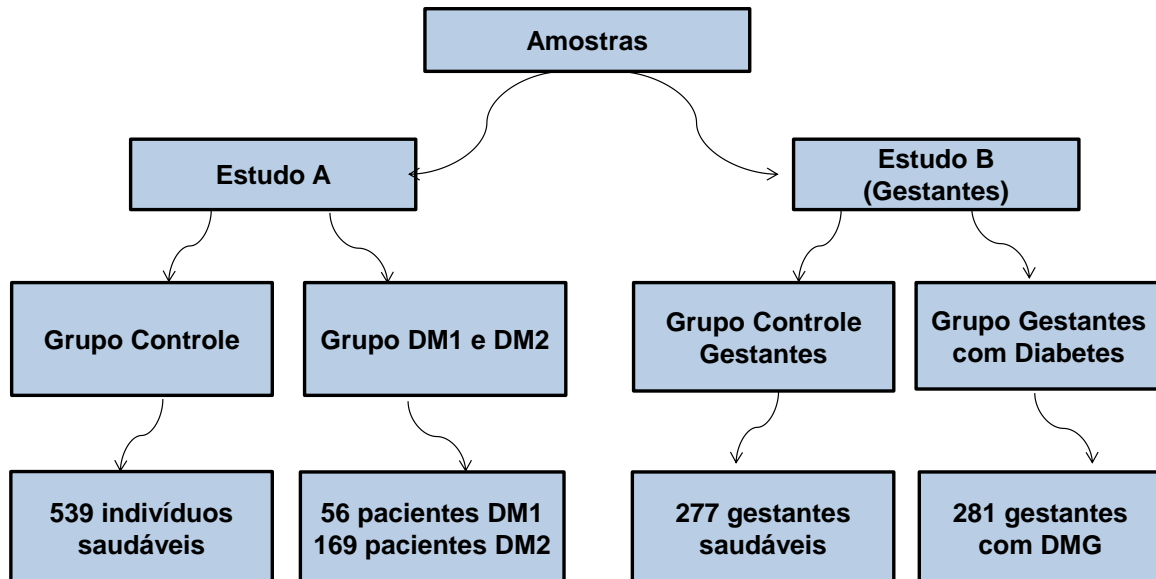


FIGURA 7. FLUXOGRAMA PARA CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS EM ESTUDO.

Para os grupos gestantes foram utilizados os critérios da V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial de 2006 (V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão, 2006), caracterizada quando a pressão arterial sistólica é >130 mmHg e/ou a pressão arterial diastólica é > 80 mmHg ou uso de medicamentos antihipertensivos.

Foram utilizados os critérios da Organização Mundial de Saúde (WHO, 2009) para a definição de fumante. Fumante é aquele que fumou mais de 100 cigarros na vida e fuma atualmente; ex-fumante quem fumou mais de 100 cigarros na vida e deixou de fumar há pelo menos um dia e não fumantes são os que nunca fumaram; os que só experimentaram e os que fumaram menos de 100 cigarros na vida.

Pacientes classificados como em uso de insulina são aqueles em que o controle da dieta não foi suficiente para reduzir os níveis glicêmicos, portanto a glicemia de jejum permaneceu superior aos níveis considerados desejáveis (SBD, 2009).

4.3 COLETA, SEPARAÇÃO E ESTOCAGEM DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISES BIOQUÍMICAS

As amostras para dosagens bioquímicas foram coletadas em tubo seco, com gel separador, sem anticoagulante e centrifugadas por 10 minutos a 5000 rpm em centrífuga Sigma 65S. Após a centrifugação o soro foi separado em alíquotas (~1,5 mL) e mantido em freezer a -20°C até a realização das dosagens. Amostras hemolisadas foram excluídas dos ensaios.

4.4 REAGENTES E DOSAGENS

Todos reagentes usados para as dosagens de 1,5 anidroglucitol (Glycomark Inc) foram obtidos comercialmente no mercado internacional, o que inclui controles e calibradores específicos para o teste.

Dosagens bioquímicas (marcadores de função renal, processo inflamatório, HGPP e perfil lipídico) foram realizadas em equipamento Abbott - Architect Ci8200, no Laboratório de Imunoquímica da Unidade de Apoio Diagnóstico do Hospital de Clínicas.

Princípios metodológicos e reagentes para dosagem dos parâmetros bioquímicos estão listados na tabela 9.

TABELA 9. MÉTODOS E VALORES DE REFERÊNCIA DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS ANALISADOS.

Dosagem	Princípio do Método	Valores de Referência
Ácido úrico	Uricase, 4-aminoantipirina (4-AAP), ácido 2,4,6-tribromo-3-hidroxibenzoico	2,6 – 6,0 mg/dL
Albumina	Reação com verde de bromocresol	3,5 – 5,0 g/dL
Colesterol Total	Enzimático colorimétrico com colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase (Reação de Trinder)	< 200 mg/dL
Creatinina	Picrato alcalino cinético	0,6 – 1,1 mg/dL
Glicose	Hexoquinase	60 - 100 mg/dL
HDL-colesterol	Ensaio homogêneo enzimático colorimétrico	Desejável > 60 mg/dL Baixo < 45 mg/dL
LDL-colesterol*	Cálculo pela equação de Friedewald	<130 mg/dL
Proteínas Totais	Reação do Biureto	6,4 – 8,3 g/dL
Triglicerídeos	Ensaio enzimático com lipase, glicerol-3-fosfato oxidase e peroxidase com Reação de Trinder	< 150 mg/dL
Uréia	Ensaio cinético com urease, glutamato desidrogenase (GLD), nicotinamida-adenina dinucleotídeo (NADH).	15 – 44 mg/dL

Determinações realizadas com reagentes, padrões e calibradores da Abbott, em sistema automatizado Architect Ci8200 (Abbott Diagnóstica Laboratórios do Brasil)

*Equação de Friedewald, LDL-colesterol = Colesterol total – HDL-colesterol – Triglicérides/5.

Os resultados de outros parâmetros bioquímicos como glicemia em jejum, glicemia pós-prandial e hemoglobina glicada, foram obtidos do prontuário dos pacientes no arquivo do Hospital de Clínicas ou do Sistema de informação Hospitalar do mesmo.

4.5 DOSAGEM DO 1,5 ANIDROGLUCITOL (1,5AG)

As determinações de 1,5 anidroglucitol foram realizadas em sistema automatizado Cobas Mira (Roche Diagnóstica LTDA) utilizando reagentes, calibradores e controles adequados ao sistema automatizado comercialmente (Glicomark - Tomen América). Todos os conjuntos de reagentes pertenciam ao mesmo lote, para minimizar variações analíticas. No Anexo IV está listada a programação utilizada para o equipamento Cobas Mira.

A quantificação do 1,5AG foi realizada por método enzimático (Glycomark, Tomen America Inc, USA). A reação transcorre em duas etapas: (1) remoção da glucose presente na amostra e (2) oxidação do 1,5AG acoplada a colorimetria. Inicialmente a enzima glucoquinase, especificamente fosforila a glucose presente na amostra, sendo o ATP suprido pela conversão de fosfoenolpiruvato a piruvato pela enzima piruvato quinase. Na segunda etapa, a enzima piranose oxidase (PROD) oxida o grupo hidroxila na segunda posição do 1,5AG produzindo 1,5 anidro-D-frutose e peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Finalmente, pela ação da peroxidase (POD) o peróxido de hidrogênio promove o acoplamento dos aceptores de elétrons 4-aminoantipiria e TOOS (sal sódico de N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-m-toluidina) gerando um cromógeno cuja concentração medida espectrofotometricamente é proporcional a quantidade de 1,5AG presente na amostra. A representação esquemática da reação está mostrada na Figura 8.

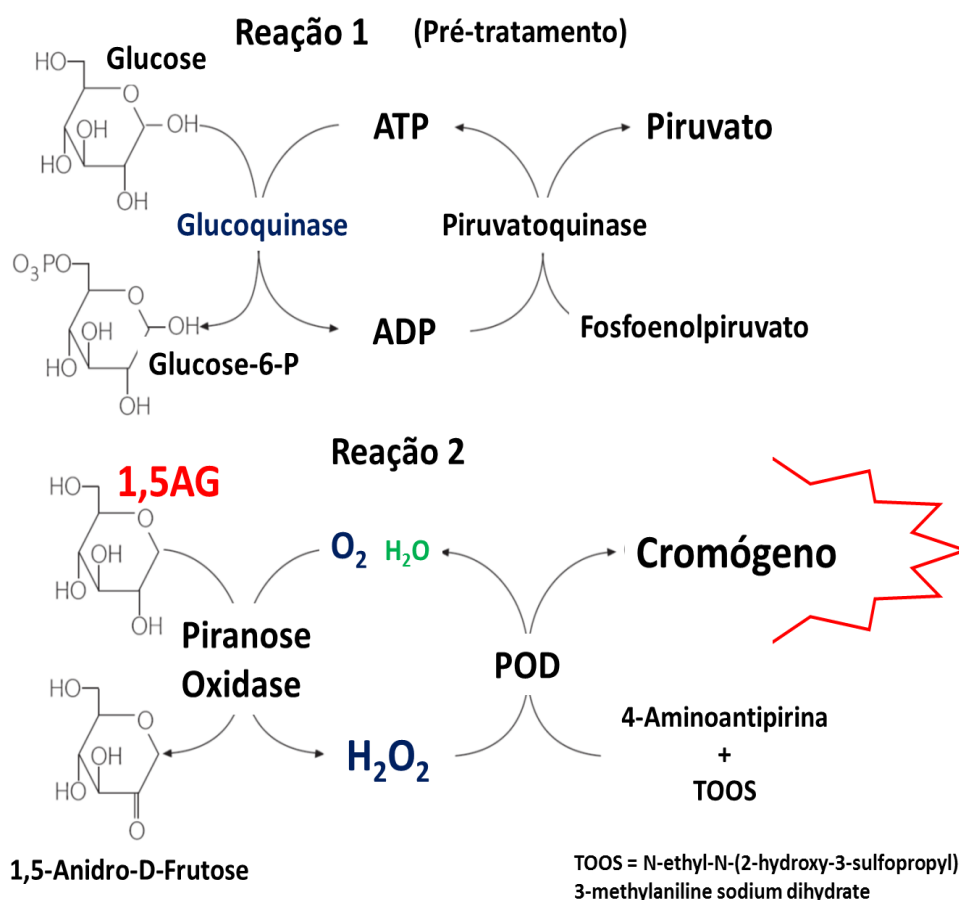


FIGURA 8. PRINCÍPIO METODOLÓGICO DA QUANTIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO 1,5 ANIDROGLUCITOL UTILIZANDO O REAGENTE GLYCOMARK.

Fonte: Adaptado das instruções técnicas do reagente GLYCOMARK.

4.5.1 Imprecisão analítica do método enzimático

A imprecisão analítica interensaio foi verificada utilizando os soros controles do fabricante do reagente (GlycoMark) para as concentrações “baixa” (limites aceitáveis 4,5-5,5 $\mu\text{g/mL}$) e “alta” (limites aceitáveis 13,5-15,5 $\mu\text{g/mL}$). Os parâmetros observados neste estudo para 25 dias de análise, apresentados em média \pm 1-desvio padrão e coeficiente de variação analítico (CVa) foram:

Controle “baixo”: 4,8 \pm 0,28 $\mu\text{g/mL}$ e CVa = 5,87%

Controle “alto”: 14,2 \pm 3,4 $\mu\text{g/mL}$ e CVa = 3,40%

Os valores observados são similares a outros estudos que utilizam o mesmo reagente na forma automatizada (YAMANOUCHI et al., 1991; DUNGAN, 2008; JANUSZEWSKI et al., 2012).

4.6 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As variáveis descontínuas foram comparadas com o teste de Chi-quadrado (χ^2) em tabelas do tipo 2X2 ou em tabelas de contingência com diferentes números de colunas e linhas utilizando o programa disponível em http://www.physics.csbsju.edu/stats/exact_NROW_NCOLUMN_form.html.

Os valores de média \pm 1-desvio padrão, mediana, amplitude de variação (mínimo-máximo) e a distribuição (2,5%; 25%. 50% e 97,5%) foram utilizados como estatísticas descritivas neste projeto. A frequência de vários parâmetros foi representada em tamanho amostral (n) ou porcentagem (%).

As variáveis contínuas foram inicialmente avaliadas quanto à distribuição normal, utilizando o teste de Kolmogorov-Smirnov. As variáveis em estudo não apresentaram distribuição normal em todos os grupos, sendo selecionados os testes não paramétricos de Kruskal-Wallis (ANOVA, para comparação de múltiplas variáveis independentes) e teste U de Mann-Whitney (para comparação de duas variáveis independentes) para as análises comparativas.

As análises de correlação foram realizadas com o teste de correlação de Pearson sendo apresentado o coeficiente de correlação (r) e a probabilidade atrelada a análise.

Os ensaios de sensibilidade, especificidade, acurácia, e variáveis correlatas segundo Parikh e colaboradores (2008), foram realizados, utilizando os programas livres OPENEPI (<http://www.openepi.com/>) e o “Teste Diagnóstico” do Laboratório de Bioquímica Clínica da UFPR desenvolvido por Waldemar Volanski (<http://www.cpdm.ufpr.br>). A matriz de acurácia empregada neste trabalho está descrita na Tabela 10.

TABELA 10. MATRIZ DE ACURÁCIA.

Teste 1,5AG	Referência: critérios ADA e SBG	
	Doente (+)	Saudável (-)
Doente (+)	a Verdadeiro Positivo	b Falso Positivo
Saudável (-)	c Falso Negativo	d Verdadeiro Negativo

a= verdadeiros positivos, número de pacientes doentes classificados corretamente pelo teste.

b= falso-positivos, número de pacientes sem a doença classificados como doentes (incorretamente) pelo teste.

c= falso-negativo, número de pacientes com a doença classificados incorretamente pelo teste.

d= verdadeiro negativo, número de pacientes sem a doença classificados corretamente pelo teste.

Sensibilidade= $a/(a+c)$; fração dos indivíduos doentes que o teste corretamente prediz.

Especificidade= $d/(b+d)$; fração dos indivíduos sem a doença (saudáveis) que o teste corretamente prediz.

Valor Preditivo Positivo= $a/(a+b)$; fração de indivíduos com teste positivo que tem a doença.

Valor Preditivo Negativo= $d/(c+d)$, fração de indivíduos com teste negativo que tem não tem a doença.

Acurácia= $a+d/(a+b+c+d)$; razão do total de acertos pela amostra total, fração de acerto total do teste (positivos+negativos).

As curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) foram desenvolvidas e analisadas segundo Park *et al.*, (2004). Para as análises com gestantes em diferentes períodos da gestação, foram selecionados o mesmo número de indivíduos (n=50) para os grupos controle e DMG para os quatro períodos estudados (1) 13-23 semanas; (2) 24-28 semanas, (3) 29-32 semanas e (4) superior a 32 semanas.

O programa Statistica para Windows 8.0 (StatSoft, Inc. Tulsa, CA) foi utilizado para as análises estatísticas.

Uma probabilidade (p) inferior a 5% ($p<0,05$) foi considerada significativa em todas as análises. Valores de probabilidade significativa foram grafados em negrito para destaque.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados serão apresentados em três tópicos. Primeiro as análises com os pacientes com DM1 e DM2 e controles (item 5.1), seguidos das análises com gestantes (item 5.2) e finalizando com os resultados obtidos para todos os grupos em conjunto (item 5.3).

5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS GRUPOS CONTROLE E COM *DIABETES MELLITUS* TIPOS 1 E 2.

A análise estatística descritiva dos grupos em estudo, incluindo média, desvio padrão, mediana e amplitude de variação está na Tabela 11. No grupo diabetes tipo 2 foi excluída das análises uma única paciente de etnia indígena, pois uma paciente não seria representativa para a população citada.

TABELA 11. CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E CLÍNICAS DOS DIABÉTICOS TIPOS 1 E 2 E CONTROLES NA AMOSTRA EM ESTUDO.

Parâmetros	Controle Média ± DP M [AV]	DM1 Média ± DP M [AV]	DM2 Média ± DP M [AV]	p
n	539	56	169	
Idade (anos)	33,2±10,7 31 [18-64]	35,9±16,5 32[13-77]	60,4±10,8 ^{a,c} 60[21-87]	<0,001^{a,c}
Sexo (M/F), %	63,9/36,1	37,5/62,5 ^b	26,5/73,5 ^{a,c}	<0,001*
Etnia (%)				
Euro-Brasileiros	-	83,9	77,6	0,655*
Afro-Brasileiros	-	16,1	16,4	
Orientais	-	0	6,0	
Peso (kg)	76,6±14,0 75 [50-136]	71,1±17,1 ^b 68[50-148]	76,6±14,7 ^a 77[46-120]	0,003
Altura (cm)	-	165,4±8,7 165[145- 186]	161,4±9,1 ^a 160[143-184]	1,0 ^a
IMC (kg/m ²)	-	25,9±5,6 24,7[15,8-45,7]	29,5±5,8 ^a 29[22-49]	1,0 ^a
Obesidade, IMC>30 kg/m ² ,(%)	-	19,6	40,6	<0,001*
Hipertensão arterial (%)	21,9	55,4 ^b	85,9 ^{a,c}	<0,001*
Tabagismo (%)				
Não fumante	-	66,0	48,8	0,074*
Ex-fumante	-	28,6	42,9	
Fumante	-	5,4	8,3	
DAC (%)	-	14,3	33,5	<0,001*
Uso de insulina (%)	-	100	60,6	<0,001*
Tempo de diabetes (anos)	-	14,3±11,1 14[0,8-44]	11,9±8,1 10[0,08-40]	0,287
História familiar de DM (%)	-	66,1	77,1	0,112
Complicações no DM (%)	-	5,4	22,9	0,032*
Doença tireoidiana (%)	-	28,6	28,2	0,981*

DP: Desvio padrão; M: Mediana; AV: Amplitude de variação.

P, probabilidade, teste de Kruskal-Wallis (ANOVA).

*Teste do chi-quadrado.

Comparações com teste de Mann-Whitney entre dois grupos:

^a p<0,05 grupo DM1 versus DM2

^b p<0,05 grupo Controle versus DM1

^c p<0,05 grupo Controle versus DM2

As quantificações de parâmetros bioquímicos em estudo estão descritas na Tabela 12.

TABELA 12. CONCENTRAÇÃO SÉRICA DE BIOMARCADORES PARA OS GRUPOS EM ESTUDO.

Parâmetros	Controle Média±DP M [AV]	DM1 Média±DP M [AV]	DM2 Média±DP M [AV]	p
n	539	56	169	
Glicemia de jejum (mg/dL)	90,5±6,8 91[67-100]	177,9±105,6 ^b 151[37-468]	159,5±73,1 ^c 139[39-468]	<0,001
1,5AG (µg/mL)	22,8±(7,9) 22.5[3.4-47.9]	6,1±8,9 ^b 3,1[0,1-46,5]	10,8±9,3 ^{a,c} 8,5[0,3-52,4]	<0,001
HbA1C (%)	-	8,7±2,0 8,4[5,2-16,3]	8,0±2,3 7,3[5,4-20,4]	0,004*
Glicemia pré-prandial (mg/dL)	-	229,5 ±116,1 236[32-591]	214,1±96,4 192[61-557]	0,392*
Glicemia pós-prandial (mg/dL)	-	197,1±146,5 168[41-800]	211,9±111,1 175[48-670]	0,093*
Colesterol (mg/dL)	189,6±40,0 187[94-323]	171,6±37,2 ^b 173[112-328]	176,5±38,2 ^c 171[88-288]	<0,001
HDL-C (mg/dL)	45,5±10,9 44[17-89]	46,7±11,9 48[25-84]	43,7±12,5 ^{a,c} 41[22-95]	0,011
LDL-C (mg/dL)	112,7±31,9 109,9[33-217]	104,8±31,7 ^b 100[49-227]	101,6±33,2 ^c 98[40-233]	<0,001
Triglicérides (mg/dL)	158,3±94,6 131[23-636]	96,2±4 ^b 86[39- 249]	166,4±114,9 ^a 138[46-1013]	<0,001
Proteína Total (g/dL)	7,4±0,6 7,5[5,1-9,5]	7,1±0,5 ^b 7,1[5,4-8,1]	7,2±0,6 ^c 7,2[5,0-9,3]	<0,001
Albumina (g/dL)	4,2±0,3 4,2[2,7-5,2]	3,9±0,3 ^b 3,9[3,2-4,5]	3,9±0,3 ^c 3,9[2,7-4,4]	<0,001
Creatinina (mg/dL)	0,84±0,16 0,80[0,5-1,4]	0,93±0,64 0,70[0,6-5,0]	0,96±0,43 ^a 0,80[0,5-3,5]	0,080
Uréia (mg/dL)	30,7±7,1 31[11-55]	32,5±15,6 29[10-95]	39,3±16,6 ^{a,c} 35[15-120]	<0,001
Ácido úrico (mg/dL)	5,7±1,4 5,6[2,1-11,2]	4,1±1,2 ^b 4,1[1,6-6,7]	5,3±1,3 ^{a,c} 5,2[2,1-9,5]	0,011

Os resultados são: Média ±1-DP e Mediana [amplitude de variação (AV)].

P teste Kruskal-Wallis ANOVA para variáveis independentes

Comparações entre dois grupos com o teste Mann-Whitney:

^a p<0,05 grupo DM1 versus DM2

^b p<0,05 grupo Controle versus DM1

^c p<0,05 grupo Controle versus DM2

A Figura 9 mostra a distribuição das concentrações de 1,5AG nos grupos controle, DM1 e DM2. O grupo DM2 também foi representado, separadamente, pelos diabéticos com controle inadequado da glicemia.

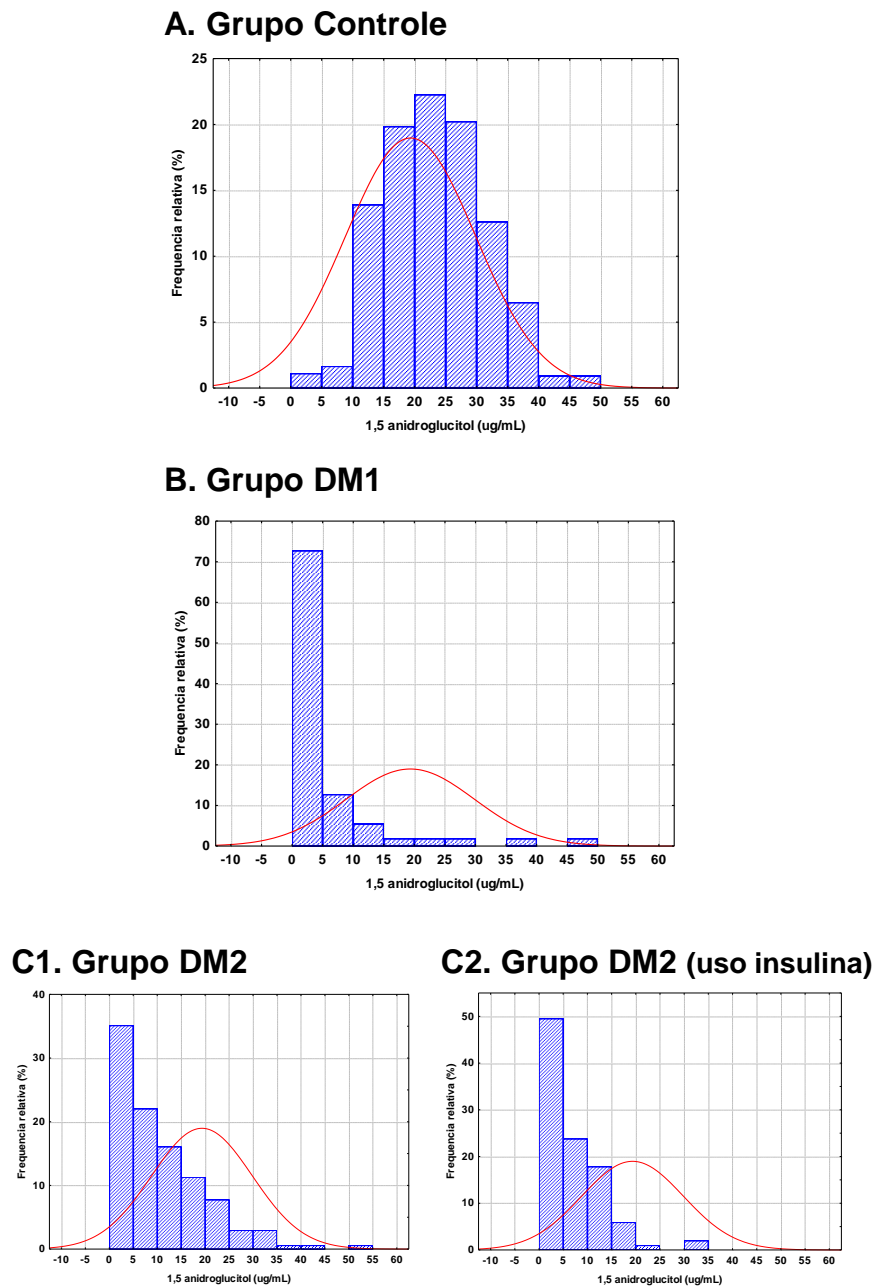


FIGURA 9. DISTRIBUIÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE 1,5AG NOS GRUPOS EM ESTUDO

A curva indica a distribuição normal esperada.

Figura 9 A. Distribuição do 1,5AG no grupo controle saudável.

Figura 9 B. Distribuição do 1,5AG no grupo diabético tipo 1 (DM1).

Figura 9 C1. Distribuição do 1,5AG no grupo diabético tipo 2 (DM2).

Figura 9 C2. Distribuição do 1,5AG no grupo DM2 que utiliza insulina (pacientes com controle pobre da glicemia).

A caracterização de diferença entre gêneros para os marcadores de controle glicêmico em estudo estão apresentadas na Tabela 13.

TABELA 13. COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE 1,5 ANIDROGLUCITOL E BIOMARCADORES DE CONTROLE GLICÊMICO CLASSIFICADOS POR GÊNERO.

Grupos	Parâmetros	Homem	Mulher	P
Controle	n=539	63,9%	36,1%	
	1,5AG (µg/mL)	24,7±7,9 24,9[8,1-47,9]	20,9±7,9 20,5[3,4-47,3]	<0,001
	HbA1C (%)	-	-	
	Glicemia jejum (mg/dL)	90,7±6,7 92[67-100]	90,0±7,1 91[68-100]	0,308
DM1	n=56	37,5%	62,5%	
	1,5AG (µg/mL)	10,4±12,2 4,5[0,4-46,5]	3,5±4,7 2,2[0,1-26,7]	<0,001
	HbA1C (%)	8,4±2,5 8,0[5,2-16,3]	8,9±1,6 8,6[5,9-12,9]	
	Glicemia jejum (mg/dL)	200,4±120,7 151[56-468]	164,5±94,6 151[37-358]	0,267
DM2	n=169	26,5%	73,5%	
	1,5AG (µg/mL)	9,5±8,8 6,6[0,3-40,8]	11,3±9,4 8,8[1-52,4]	0,194
	HbA1C (%)	7,7±1,9 7,0[5,4-12]	8,1±2,4 7,4[5,4-20,4]	0,632
	Glicemia jejum (mg/dL)	169,1±80,3 150[63-390]	155,9±70,4 137[39-468]	0,333

Os valores estão expressos em média±1DP e mediana (amplitude de variação). As frequências de homens e mulheres estão expressas em porcentagem.

P, probabilidade teste Mann-Whitney

A análise de correlação linear (Pearson) entre variáveis antropométricas e laboratoriais com o 1,5AG estão descritas na Tabela 14.

TABELA 14. ANÁLISE DE CORRELAÇÃO ENTRE 1,5 ANIDROGLUCITOL E MARCADORES ANTROPOMÉTRICOS E DE CONTROLE GLICÊMICO PARA OS GRUPOS EM ESTUDO.

Grupos	1,5 anidroglucitol		
	Controle	DM1	DM2
Sexo	-0,219 (p<0,001)	-0,448 (p=0,001)	0,074 (p=0,375)
Idade	-0,162 (p<0,001)	0,246 (p=0,085)	0,143 (p=0,086)
Glicemia de jejum (mg/dL)	-0,020 (p=0,655)	-0,110 (p=0,444)	-0,383 (p<0,001)
HbA1C (%)	-	-0,418 (p=0,003)	-0,580 (p<0,001)
Colesterol (mg/dL)	-0,097 (p=0,026)	-0,016 (p=0,912)	-0,005 (p=0,526)
HDL-C (mg/dL)	-0,068 (p=0,115)	-0,198 (p=0,167)	-0,011 (p=0,897)
LDL-C (mg/dL)	-0,102 (p=0,018)	0,044 (p=0,757)	-0,072 (p=0,386)
Triglicérides (mg/dL)	0,005 (p=0,914)	0,162 (p=0,260)	0,019 (p=0,820)
Proteína Total (g/dL)	0,034 (p=0,434)	0,223 (p=0,118)	0,110 (p=0,186)
Albumina (g/dL)	0,044 (p=0,314)	0,238 (p=0,096)	0,121 (p=0,148)
Creatinina (mg/dL)	0,125 (p=0,004)	0,039 (p=0,786)	-0,099 (p=0,234)
Uréia (mg/dL)	0,012 (p=0,788)	0,255 (p=0,074)	-0,040 (p=0,635)
Ácido úrico (mg/dL)	0,172 (p<0,001)	0,318 (p=0,024)	0,337 (p<0,001)

Valores do coeficiente de correlação linear de Pearson (r) e entre parênteses os valores de probabilidade para o teste de correlação.

A Figura 10 mostra a associação das concentrações séricas de 1,5AG com a idade para os grupos controle, DM1 e DM2.

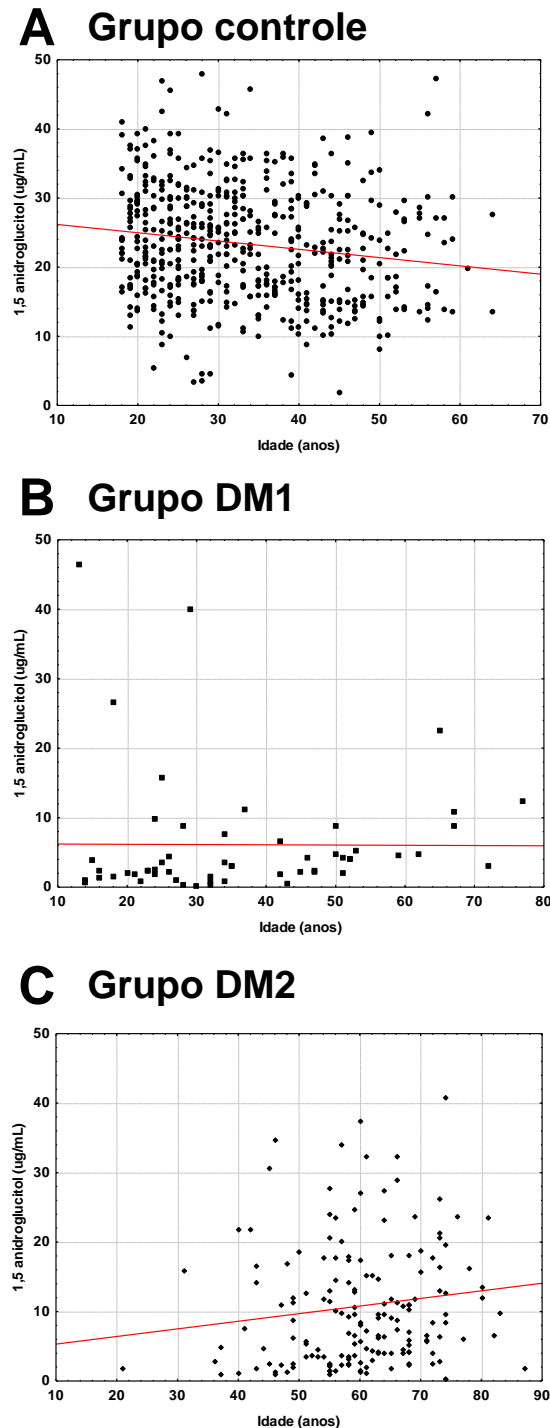


FIGURA 10. ASSOCIAÇÃO ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE 1,5AG E IDADE NOS GRUPOS EM ESTUDO

As figuras A, B e C mostram respectivamente a associação do 1,5AG e idade, respectivamente, nos grupos controle, DM1 e DM2. A reta representa a regressão linear entre os pontos.

A relação entre o 1,5AG e marcadores de controle glicêmico (HbA1C e glicemia em jejum) estão representados na Figura 11 para os grupos DM1, DM2 e controle.

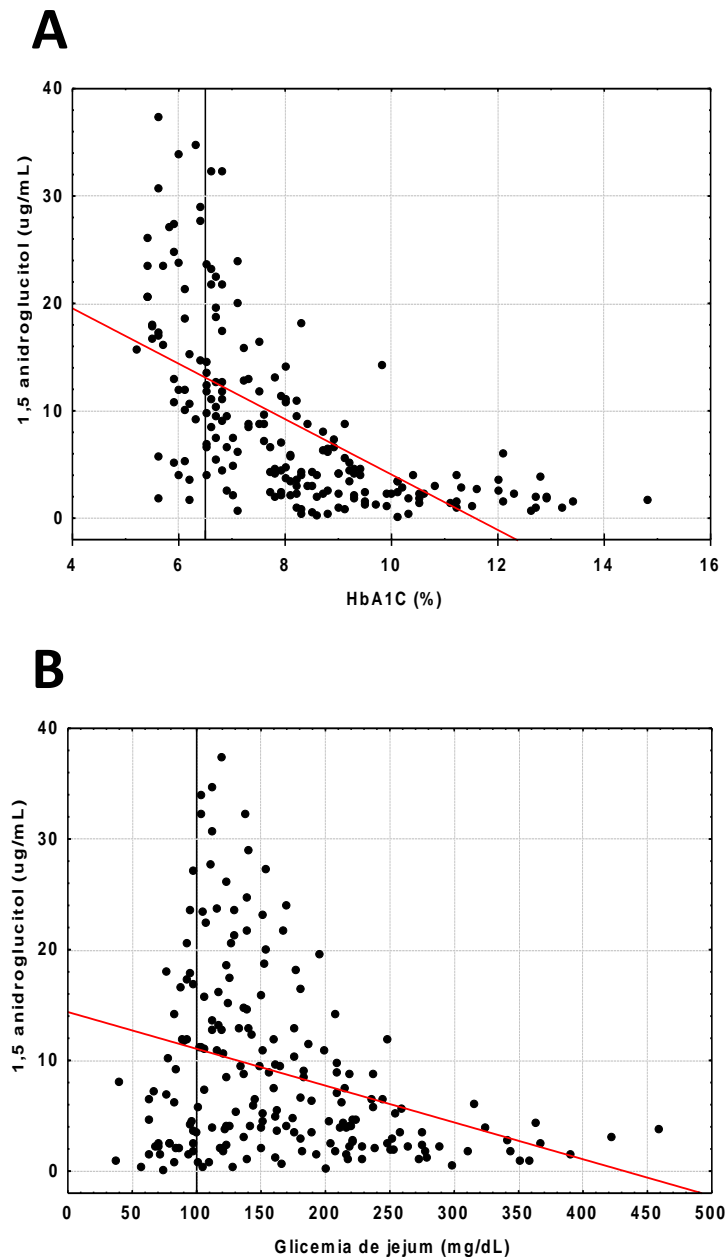


FIGURA 11. RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE 1,5AG E HbA1C E GLICEMIA DE JEJUM NOS GRUPOS COM DIABETES (DM1+DM2).

A linha horizontal mostra a reta de regressão entre os pontos.

Figura 11 A. 1,5AG vs HbA1C. A linha vertical marca a concentração de HbA1C 6,5%, considerado limite superior para o controle glicêmico.

Figura 11 B. 1,5AG vs glicemia de jejum. A linha vertical marca a concentração de glicemia de 100 mg/dL limite superior para o bom controle glicêmico.

As correlações entre 1,5AG e glicemia em jejum e HbA1C para os grupos DM1 e DM2, classificados segundo o controle glicêmico adequado e inadequado estão descritas na Tabela 15.

TABELA 15. CORRELAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE 1,5AG COM O DIABETES (DM1 E DM2) DE ACORDO COM O CONTROLE GLICÊMICO

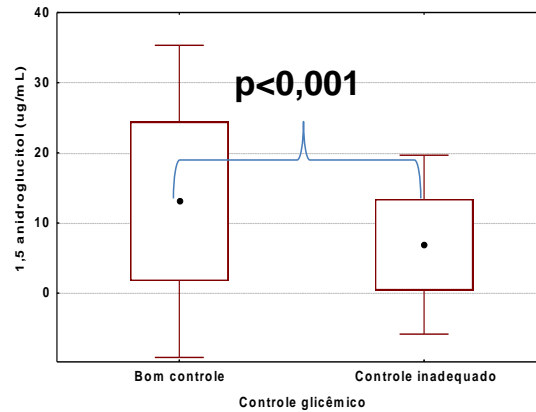
Controle glicêmico	Biomarcadores	1,5 anidroglicitol			
		DM1 (n=56)		DM2 (n=169)	
		%	r	%	r
Adequado	Glicemia \leq 100 mg/dL	25	0,298	20	0,253
			(p=0,301)		(p=0,149)
	HbA1C \leq 6,5%	7,1	-0,354	26,6	0,281
			(p=0,646)		(p=0,061)
Inadequado	Glicemia $>$ 100 mg/dL	75	-0,329	80	-0,523
			(p=0,041)		(p<0,001)
	HbA1C $>$ 6,5%	92,9	-0,327	73,4	-0,619
			(p=0,026)		(p<0,001)

r, coeficiente de correlação linear de Pearson.

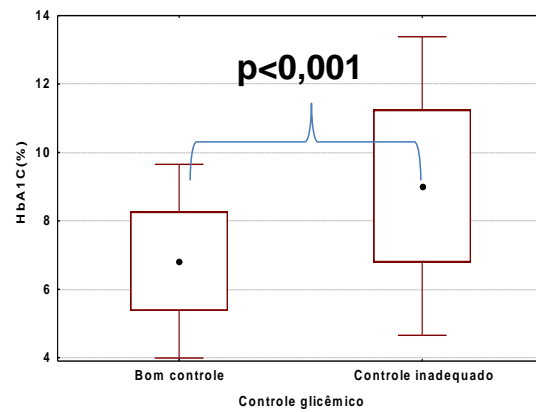
Crítérios para classificar os diabéticos com controle adequado e inadequado, segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (2009).

As comparações entre as concentrações dos biomarcadores 1,5AG, HbA1C e glicemia de jejum em relação a paciente diabéticos com controle glicêmico bom e inadequado esta representado na Figura 12.

A. 1,5 anidroglicitol



B. Hemoglobina glicada (HbA1C)



C. Glicemia de jejum

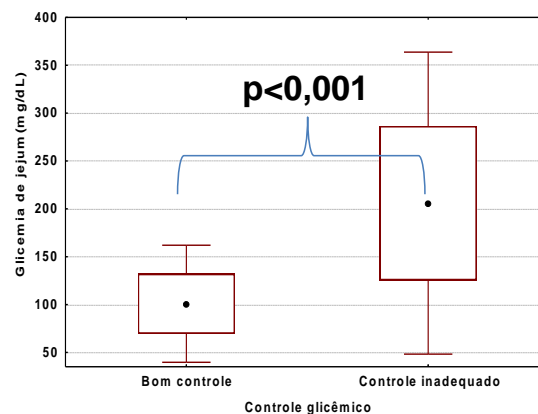


FIGURA 12. CONCENTRAÇÕES DOS BIOMARCADORES DE CONTROLE GLICÊMICO EM DIABÉTICOS (DM1 E DM2).

As figuras A-C, representam comparações de diabéticos (DM1+DM2) com controle glicêmico adequado e inadequado segundo a SBD (2009), respectivamente para os biomarcadores, 1,5AG, HbA1C e glicemia de jejum.

Os círculos fechados indicam as médias, o quadrado 1-desvio padrão e as barras horizontais 2-desvios padrões. O valor de probabilidade (p) comparando as duas médias foi obtido com o teste de Mann-Whitney.

5.2 DISCUSSÃO DOS ESTUDOS COM PACIENTES DIABÉTICOS TIPO 1 E 2.

Caracterização da amostra

Idade

O grupo controle saudável empregado no estudo tem idade média similar ao grupo de pacientes com DM1 (Tabela 11), sendo significativamente ($p < 0,001$) mais jovens que os pacientes com DM2. Esta característica está em concordância com outros estudos e com a própria descrição dos tipos de diabetes, que atribuem ao DM1 as características de diabetes com início na juventude e ao DM2 um diabetes da maturidade. (KING e HERMAN, 1998; SARTORELLI e FRANCO, 2003).

Quanto ao grupo controle, que utilizou doadores de sangue, foi descrito por Martelli e colaboradores (1991), em seu estudo de rastreamento sorológico de doadores em um Banco de Sangue, do estado de Goiás, uma população de indivíduos jovens, com média de 27 ± 9 anos, o que se aproxima do encontrado pelo nosso estudo ($33,2 \pm 10,7$ anos) como mostrado na Tabela 11.

Gênero

Considerando que o grupo controle foi obtido de pacientes doadores de sangue, a faixa etária e a distribuição de gênero são compatíveis com a de doadores de sangue descrita em outros trabalhos (OWNBY et al., 1999). Ainda no estudo realizado por Martelli e colaboradores (1991) foi observado que o grupo controle era composto predominantemente pelo sexo masculino (86,7%), em concordância com o nosso resultado, onde o grupo controle apresentou a frequência de 63,9% para o sexo masculino (Tabela 11).

A distribuição de gênero nos grupos em estudo mostra predominância significativa de mulheres nos grupos com diabetes (>60%) quando comparado com o grupo controle (36%). Embora a frequência de diabetes possa apresentar preferência por gênero em algumas populações estudadas, esta é discreta. A expressiva frequência do sexo feminino observada neste estudo para os grupos de diabéticos possivelmente reflete o maior cuidado com a saúde apresentado pelas mulheres, bem como a disponibilidade destas pacientes em procurar atenção à saúde, um fenômeno já descrito em outros trabalhos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1993).

Etnia

A predominância da etnia Euro-brasileira (>75%) nos grupos com diabetes reflete a distribuição étnica do estado do Paraná, especialmente a região de Curitiba (EIDAM et al., 2009), onde as amostras foram coletadas. Não é possível, portanto, fazer qualquer atribuição sobre prevalência de diabetes associada à etnia neste estudo (Tabela 11).

Peso, IMC e Obesidade

O grupo controle apresenta peso médio similar aos pacientes com DM2, sendo que ambos diferem significativamente ($p=0,003$) dos pacientes com DM1.

O diabetes tipo 2 tem como característica e fator de risco associado o sobrepeso e a obesidade, respectivamente (SARTORELLI e FRANCO, 2003; SCHAAN et al., 2004), assim como o DM1 está frequentemente associado à redução do peso (FRANCISCHI et al., 2000). Os grupos em estudo (Tabela 11) mostram distintamente esta distribuição esperada, com o grupo DM2 apresentando IMC significativamente superior ($p<0,05$) aos demais e o grupo DM1 com peso inferior aos controles ($p<0,05$).

A prevalência superior a 60% de mulheres nos grupos com diabetes pode ter influenciado a relação do IMC e obesidade com os tipos de diabetes em estudo neste tópico. Enquanto para o DM1 a elevada prevalência de mulheres pode ter propiciado um peso e IMC menores, para o DM2 um efeito oposto pode ser esperado (COLDITZ et al., 1995; GROSSI et al., 2002).

Hipertensão

Mais de 50% dos pacientes com diabetes apresentam hipertensão arterial (Tabela 11). Nossos dados confirmam ser a hipertensão um dos principais achados, associada ao diabetes, em particular nos pacientes com DM2 (>85%), reproduzindo as características para este fator descrita em outros estudos (FRANCISCHI et al., 2000; CORREA, 2003).

Tabagismo

A frequência dos diabéticos expostos ao tabaco não foi diferente entre os grupos de diabéticos em estudo ($p=0,074$). No entanto, deve ser destacado que cerca de 34% e 51% dos pacientes, respectivamente DM1 e DM2, tiveram ou tem

contato com o fumo (ex-fumantes + fumantes). O expressivo número de ex-fumantes (42%) entre os DM2, pode ser resultado do abandono do tabaco imposto no diagnóstico do diabetes associado à hipertensão arterial, fatores de risco para doença arterial coronariana (DAC).

Esta alta prevalência encontrada se justifica pelo fato de que o tabaco constitui um fator de risco modificável para o diabetes, juntamente com peso, hábitos alimentares e prática de exercício físico. Além disso, foi demonstrado que a mudança do estilo de vida possui potencial de redução de 88% no risco em desenvolver diabetes (CORREA, 2003; HU et al., 2003).

DAC e Dislipidemia

Para os indivíduos do grupo controle (saudáveis) não foi possível obter a avaliação da presença ou risco de DAC pela falta de informação nos prontuários do Banco de Sangue.

A doença arterial coronariana ocorre mais comumente em diabéticos do que na população em geral, afetando mais de 55% dos pacientes. O *Diabetes mellitus* é o principal fator de risco para a doença cardiovascular e de forma independente (FEIN e SCHEUER, 1990; SPOSITO et al., 2007). Estudos realizados no Brasil mostram que a frequência esperada de DAC para a população saudável é em torno de 6%, para DM1 de 25% (MATHEUS et al., 2008) e para DM2 de 43,6% (BAHIA et al., 1999), corroborando com outros estudos (LERARIO, 1998; CORREA, 2003; MATHEUS et al., 2008). A maior frequência de DAC nos pacientes diabéticos está associada aos fatores de risco que contribuem para o desenvolvimento das complicações diabéticas. (BROWNLEE, 2001; SAKURAI et al., 2003; NAKA et al., 2004), principalmente estudo foi mostrado que a DAC esta presente nos pacientes com DM2 em uma proporção superior a duas vezes (33,3% vs. 14,3%) quando comparado ao DM1 (Tabela 11). Esta frequência é similar (1,7 vezes) ao descrito por Matheus e colaboradores (2008) e Bahia e colaboradores (1999).

A elevada prevalência de DAC em pacientes com DM2 também está relacionada a estes pacientes apresentarem maior número de fatores de risco para DAC quando comparado com os pacientes com DM1, entre eles resistência à insulina, sobrepeso/obesidade, tabagismo, idade e hipertensão (FORRESTER et al., 1996; SPOSITO et al., 2007), todos estes demonstrados também no presente estudo.

Tempo de diabetes e História familiar de diabetes

O tempo a partir do diagnóstico de diabetes não foi diferente entre os grupos DM1 e DM2 ($p=0,287$), bem como a história familiar para o diabetes ($p=0,112$), como observado na Tabela 11. Pelas características do início do DM2 ser frequentemente acima dos 40 anos e persistir ao longo da vida do paciente e uma vez que a idade média dos pacientes em estudo para este grupo foi de 60,4 anos, era esperado que este grupo apresentasse maior tempo da doença pós diagnóstico. Este dado poderia sugerir que os pacientes no estudo tiveram um diagnóstico tardio, o que teria suporte na literatura, que reporta que cerca de 50% dos diabéticos desconhecem o diagnóstico (MALERBI e FRANCO, 1992; GROSS et al., 2002).

Os grupos DM1 e DM2 apresentaram uma frequência elevada para história familiar de diabetes ($> 66\%$), indicando que esta informação é relevante e pode ser utilizada como fator de risco para triar pacientes com potencial risco para o desenvolvimento da doença. Goldenberg, Schenkman e Franco (2003) relataram a importância da história familiar para detecção de pacientes recém-diagnosticados em seu estudo, mostrando uma prevalência de 18% (GOLDENBERG et al., 2003). Além disso, Souza e colaboradores (2005) reportaram que a prevalência de DM foi maior em pessoas com história familiar da doença (10,3%).

O estudo realizado por Araújo e colaboradores (1999) também observou uma alta frequência de história familiar para diabetes (74,6%), sendo esta 3,5 vezes maiores quando comparada a outros estudos (BOER et al., 1998; GOLDENBERG et al., 2003) e similar aos dados observados neste trabalho.

Desta forma, a história familiar de DM2 também é fator proeminente no risco para desenvolvimento do diabetes (MITCHELL et al., 1993), independente da obesidade (BJØRNHOLT et al., 2000).

Os resultados de Zamora-Ginez e colaboradores (2012) também reiteraram a associação do histórico familiar de DM2 com diminuição da sensibilidade à insulina e o balanço inadequado entre sensibilidade à insulina e sua secreção (BJØRNHOLT et al., 2000; ZAMORA-GINEZ et al., 2012). Além disso, o histórico familiar de DM2 foi associado com diminuição de resposta à insulina e hiperinsulinemia em hispânicos mexicanos saudáveis (BJØRNHOLT et al., 2000; GUERRERO-ROMERO, 2001). A resistência à insulina tem se revelado um preditor pobre do desenvolvimento do DM em pacientes com ausência de histórico familiar de DM2 (GOLDFINE et al., 2003). Em síntese, o histórico familiar como fator de associado ao

DM2 e com o desenvolvimento das alterações na ação da insulina, independente da obesidade é importante, o que foi ratificado pelo trabalho em tela.

Uso de insulina e Complicações associadas ao diabetes

Como esperado, todos os pacientes com DM1 utilizam insulina exógena (Tabela 11). Cerca de 60% dos pacientes com DM2 também utilizam insulina exógena indicando que os hipoglicemiantes orais para este segmento não foram capazes de estabilizar a glicemia. A elevada frequência de uso de insulina nos pacientes com DM2, associada ao controle glicêmico inadequado com hipoglicemiantes orais (HAMATY, 2011), é compatível com a elevada taxa de complicações associadas ao diabetes neste grupo (22,9%), cerca de quatro vezes superior à observada para DM1 (5,4%).

Entre as complicações crônicas do diabetes, a mais frequente é a neuropatia, seguida pela retinopatia e nefropatia em frequências equivalentes (BARBUI e COCCO, 2002; SBD, 2009). Após 15 anos do diagnóstico de DM2, a retinopatia esteve presente em 97% dos usuários de insulina e 80% dos não usuários (SBD, 2009).

Doença tireoidiana

No grupo de pacientes diabéticos tipo 1, a prevalência de doença tireoidiana foi de 28,6%. A discriminação entre hipotireoidismo ou hipertireoidismo não foi possível com os dados disponíveis (Tabela 11). A prevalência elevada observada de doença tireoidiana está em concordância com outros estudos que descrevem a incidência entre 15 a 30% de doença autoimune tireoidiana em pacientes diabéticos tipo 1 (DEN DRIESSCHE, *et al.*, 2009; KARAVANAKIA *et al.*, 2009; STEPHEN *et al.*, 2011). Outros estudos conduzidos no Brasil mostraram prevalências da doença tireoidiana de 20,6% (RAMOS *et al.*, 2003), 30,7% (SOUZA *et al.*, 2005), 33% (ARAUJO *et al.*, 2008), todos em concordância com os resultados deste trabalho.

No grupo de pacientes diabéticos tipo 2, a prevalência de doença tireoidiana foi de 28,2% (Tabela 11). Celani, Bonati e Stucci (1994) relataram frequências de 31,4% e Díez, Sánchez e Iglesias (2011) de 32,4% para pacientes com DM2. Outros estudos reportam uma prevalência menor de doença tireoidiana entre 12,4-13,4% (CELANI *et al.*, 1994; PERROS *et al.*, 1995; RADAIDEH *et al.*, 2004).

Estas diferenças de frequência podem ser decorrentes da diversidade de critérios diagnósticos para a doença tireoidiana (valor de corte utilizado para o TSH), heterogeneidade das populações estudadas, insensibilidade relativa do teste utilizado para avaliar a função tireoidiana e falta de utilização de testes de imagem da tireoide para o diagnóstico confirmatório (TUNBRIDGE et al., 1977; VANDERPUMP et al., 1995; CANARIS et al., 2000; HOLLOWELL et al., 2002).

Alguns trabalhos mostram uma maior frequência de disfunção tireoidiana em pacientes com DM1 comparada com pacientes com DM2 (PERROS et al., 1995; BADMAN e CHOWDHURY, 2002; DOSI e TANDON, 2010). Contudo, outros estudos reportaram a mesma prevalência entre os dois tipos de diabetes (RADAIDEH et al., 2004; WARREN et al., 2004). Os dados apresentados aqui estão em concordância com os de Ramasamy e colaboradores (2011) que encontraram que a frequência das doenças tireoidianas é similar em pacientes com DM1 e DM2.

Devido à alta prevalência de doença tireoidiana nos pacientes diabéticos tipo 1 e tipo 2 encontrada neste trabalho, recomenda-se a triagem para identificação do tipo de doença tireoidiana, através da dosagem do TSH, como fator relevante associado ao diabetes. Também, o diagnóstico de alteração tireoidiana associado ao diabetes tem impacto na terapêutica com insulina. A sensibilidade à insulina e a necessidade desta são afetados na presença da doença tireoidiana, requerendo aumento na dose deste hormônio neste grupo de pacientes (DUNTAS et al., 2011).

Biomarcadores de controle glicêmico (glicemia jejum, 1,5AG e HbA1C)

Uma significativa diferença na concentração dos biomarcadores de controle glicêmico pode ser observada entre o grupo controle e os pacientes com diabetes (Tabela 12). Esta esperada diferença confirma os critérios de seleção dos grupos, em especial o grupo controle saudável para o qual é esperado glicemia de jejum dentro de parâmetros normais.

A Figura 9 mostra a distribuição das concentrações de 1,5AG nos três grupos estudados. Perfis similares foram descrito em outros trabalhos (YAMANOUCHI et al., 1991; MEHTA et al., 2011).

No grupo controle saudável, a distribuição da concentração de 1,5AG se aproxima da distribuição normal, com a maior frequência entre as concentrações de 15 a 30 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 9 A). O intervalo de concentrações observado foi similar a outros estudos: 16-28 $\mu\text{g/mL}$ (KAMETANI et al., 1987); 17-32 $\mu\text{g/mL}$ (YAMANOUCHI

et al., 1991); 16-32 $\mu\text{g/mL}$ (ROBERTSON et al., 1993); 16-27 $\mu\text{g/mL}$ (JANUSZEWSKI et al., 2012); e 13-24 $\mu\text{g/mL}$ (LI et al., 2008).

Nos pacientes com DM1 as concentrações de 1,5AG não apresentam distribuição normal e cerca de 70% estão entre 0 e 5 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 9 B). Esta característica reforça que estes pacientes apresentam frequência elevada de excursões hiperglicêmicas (picos de hiperglicemia), o que é compatível com usuários de insulina exógena. Neste grupo a dificuldade de maior rigor no controle glicêmico está atrelada ao uso das insulinas exógenas, que não reproduzem a homeostasia do sistema fisiológico normal (SBEM, 2005).

Nos diabéticos tipo 2 (Figura 9 C1) mais de 50% dos pacientes apresentaram concentrações entre 0 e 10 $\mu\text{g/mL}$, sugerindo que a maioria dos pacientes deste grupo apresentam controle pobre da glicemia, fato confirmado pelas concentrações de HbA1C (média $8,0 \pm 2,3\%$, tabela 12, início) e uso de insulina em mais de 60% dos pacientes (HERMAN et al., 2009; LU et al., 2003).

Quando selecionados os pacientes com DM2 que fazem uso de insulina exógena (Figura 9 C2), cerca de 50% dos pacientes apresentam concentrações de AG entre 0 e 5 $\mu\text{g/mL}$, um comportamento similar ao grupo DM1.

Com base nas concentrações de HbA1C, os grupos diabéticos podem ser descritos como apresentando controle glicêmico inadequado, com valores médios de HbA1C de 8,7% e 8,0%, respectivamente para DM1 e DM2. Corroboram com esta afirmação o uso expressivo de insulina no grupo DM2 (60%) (Tabela 11) e pelas elevadas glicemias médias de jejum, pré-prandial e pós-prandial para os dois grupos (Tabela 12).

A significativa concentração de HbA1C maior no grupo DM1 em relação a DM2 (8,7% vs. 8,0%, $p=0,004$) (Tabela 12) pode estar associada a maior dificuldade no controle glicêmico com uso de insulina, de todos os pacientes com diabetes tipo 1 (ROSENSTOCK, 2001; HAMATY, 2011).

A concentração média do 1,5AG foi significativamente diferente entre os três grupos em análise (DM1, DM2 e saudável) (Tabela 12 e Figura 9). Diabéticos com DM1 e DM2 apresentaram concentração média de 1,5AG cerca de 4 e 2 vezes menores, respectivamente, que a do grupo controle saudável (Tabela 12). A menor concentração de 1,5AG observada no DM1 quando comparada a DM2 ($p<0,05$) sugere que grupo DM1 esta sujeito a maior frequência de eventos hiperglicêmicos

(incursões hiperglicêmicas). Contudo, esta diferença nas concentrações de 1,5AG entre os dois grupos independem da HbA1C.

Yamanouchi e colaboradores (1987 e 1992) mostraram que a marcada diferença na concentração de 1,5AG entre os pacientes com DM1 e DM2 ocorria naqueles que apresentavam controle glicêmico similar quando avaliado pela HbA1C. Para corroborar, dois estudos realizados por Pitkänen e colaboradores (1982 e 1984) mostraram que concentrações expressivamente reduzidas de 1,5AG são encontradas em pacientes com DM1 e que o tratamento intensivo com insulina ou mesmo infusão subcutânea com bomba por vários meses apresentavam pouco efeito sobre as concentrações plasmáticas de 1,5AG. A maior variabilidade do 1,5AG em pacientes com concentrações de HbA1C similares foi explicada pela variação na hiperglicemia pós-prandial, parâmetro que captura os picos de hiperglicemia (YAMANOUCHI et al., 1992; DWORACKA et al., 2005; CHRISTENSEN e WILLIAMS, 2009). Também, as concentrações de 1,5AG (Figura 9 - C1 e C2) são menores em pacientes que já apresentam as complicações diabéticas e realizam tratamento com insulina (UMEDA et al., 1991). Esta expressiva diferença em nosso estudo, sugere que o grupo DM1 apresenta um controle glicêmico expressivamente mais inadequado quando comparado ao DM2, corroborando com os dados de HbA1C.

Em concordância com esses resultados, outros estudos mostraram que as concentrações de 1,5AG são consistente e marcadamente diminuídas em pacientes diabéticos tipo 1 (valores médios entre 0,98-1,97 $\mu\text{g/mL}$) (PITKÄNEN, 1982; YAMANOUCHI, 1987; YAMANOUCHI et al., 1992; JANUSZEWSKI et al., 2012) ou quando comparados com pacientes diabéticos tipo 2 (valores médios entre 4,27-7,88 $\mu\text{g/mL}$) (UMEDA et al., 1991; YAMANOUCHI et al., 1991; YAMANOUCHI et al., 1992), e neste estudo 6,1 para os DM1 e 10,8 para os DM2.

Embora as concentrações plasmáticas do 1,5AG (Tabela 12) nos grupos DM1 e DM2 no estudo em tela, sejam maiores que os reportados por Yamanouchi e colaboradores (1987; 1992), a diferença entre os grupos também é consistente e estatisticamente significativa ($p < 0,001$). As concentrações maiores de 1,5AG encontradas neste estudo podem ser justificadas pelo melhor controle glicêmico reportado na forma da HbA1C que os pacientes DM1 e DM2 apresentaram (valor médio de 8,3%) quando comparadas a outros estudos (UMEDA et al., 1991; YAMANOUCHI et al., 1992; HERMAN et al., 2009), uma vez que são muito similares

a um estudo australiano onde as concentrações de HbA1C são próximas a 8,0% (JANUSZEWSKI et al., 2012).

Perfil lipídico

Para o perfil lipídico (colesterol total, HDL-c, LDL-c e triglicérides) embora as concentrações médias apresentem diferenças significativas entre os grupos em estudo, ($p < 0,05$) estas não são expressivas (Tabela 12). Seria esperado que os grupos com diabetes, tanto DM1 como DM2, apresentassem uma especial redução no HDL-c e um aumento nos triglicérides de forma muito explícita em relação ao grupo controle saudável, mas essa diferença foi discreta. A deficiência relativa ou absoluta de insulina interfere com o metabolismo lipídico em particular com a ativação da lipase lipoproteica e sua ação sobre as partículas de quilomicrons e VLDL, ambas relacionadas ao transporte de triglicérides (NIKKILÄ et al., 1977). Possivelmente, a extensa utilização de agentes hipolipemiantes pelos pacientes dos grupos DM1 e DM2 impediu uma diferenciação maior entre os componentes do perfil lipídico.

Proteínas (proteínas totais e albumina)

As concentrações das proteínas mostraram diferenças significativas ($p < 0,001$) entre os grupos sendo que o grupo controle apresenta concentrações superiores aos dos diabéticos (Tabela 12). Em análise global os grupos diabéticos não apresentam sinais de perda proteica importante ou deficiência nutricional.

Os pacientes com DM1 e DM2 estão sujeitos a processos inflamatórios e microalbuminúria, ambas as condições reduzem as concentrações plasmáticas de albumina (WISEMAN et al., 1984; FESTA et al., 2000; GOMES, et al., 2003). Estas características podem em parte explicar a pequena redução nas proteínas observadas nos grupos com diabetes do presente estudo (Tabela 12).

Ureia e creatinina

Ureia e creatinina são marcadores de filtração glomerular, consequentemente da função renal (FERGUSON e WAIKAR, 2012). O grupo DM2 apresentou concentrações médias destes marcadores consistentemente superiores ao grupo controle (Tabela 12). Este resultado era esperado uma vez que entre as complicações mais frequentes associadas ao DM2 está a lesão renal (REDDI e

CAMERINI-DAVALOS, 1990; CASTIEL e COIMBRA, 2006). A nefropatia no DM2 é progressiva e associada ao mau controle glicêmico (DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL, 1995; UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY, 1998a; MURUSSI, et al., 2008). Vale ressaltar que a média e mediana das concentrações da creatinina e uréia não superaram os valores de referência para estes analitos, o que indica que os grupos diabéticos não apresentam um grupo importante de pacientes com nefropatia manifesta.

Ácido úrico

A concentração sérica de ácido úrico foi significativamente menor ($p < 0,05$) nos grupos com diabetes quando comparados ao controle saudável (Tabela 12).

Tem sido descrito que pacientes com DM1 e DM2 podem apresentar hipouricemia (DECOEK, 1965; HERMAN e KEYNAN, 1969; MARTÍN e NIETO, 2011). Isto implica que a fisiopatologia deve estar conectada com algum mecanismo em comum em ambas as condições. Esta redução da concentração plasmática de urato é devida a um aumento no *clearance* (depuração) renal deste analito associado à glicosúria por mecanismo que permanece desconhecido (GOTFREDSEN et al., 1982; DURÁ TRAVÉ et al., 1984; SHICHIRI, et al., 1987; ERDBERG et al., 1992; GOLIK et al., 1993). Esta hipouricemia foi observada em pacientes com taxa de filtração glomerular normal.

Moriwaki e colaboradores (1994) mostraram que o aumento no *clearance* do ácido úrico ocorria na infusão com glicose, mas não com manitol, sugerindo que o efeito não é relacionado à diurese osmótica, mas sim pela glicosúria e/ou hiperglicemia. Contudo, foi sugerido que a hiperuricemia é um marcador preditivo de nefropatia diabética (SHICHIRI et al., 1990; MORIWAKI et al., 1994) e anormalidades renais, afetando o transporte de ácido úrico em pacientes diabéticos (HISATOME et al., 1992).

Análise dos grupos em estudo separados por gênero

As concentrações de 1,5 anidroglicitol apresentaram diferenças entre gêneros (Tabela 13). Os homens, saudáveis (controles) e DM1 apresentaram concentrações significativamente superiores ($p < 0,001$) em relação às mulheres, respectivamente, 1,2 e 3 vezes. Diabéticos tipo 2 não mostraram diferença entre gêneros, confirmando resultados de outros trabalhos (HERMAN et al., 2009).

Deve ser ressaltado que a significativa diferença observada quanto à concentração de 1,5 anidroglicitol entre os grupos diabéticos (DM1 e DM2), mostrados na tabela 12, pode ter sido afetada pela análise não ter discriminação por gênero. As concentrações médias de 1,5AG em mulheres com DM1 foi significativamente menor ($3,5 \mu\text{g/mL}$) quando comparada a homens ($10,4 \mu\text{g/mL}$) em razão de cerca de 3 vezes. Entre os estudos que também reportaram esta mesma redução significativa, dois deles utilizaram um número similar de homens e mulheres (YAMANOUCHI et al., 1992; JANUSZEWSKI et al., 2012) e outro estudo contempla o dobro de mulheres (MCGILL et al., 2004). Mehta e colaboradores (2011) foi o único estudo encontrado que avaliou as concentrações de 1,5AG em pacientes DM1 e mostrou uma diferença significativa ($p=0,003$) entre o sexo feminino ($3,4 \pm 1,6 \mu\text{g/mL}$; com intervalo de $1,0-9,5 \text{ mg/mL}$) e masculino ($4,5 \pm 2,3 \mu\text{g/mL}$; com intervalo de $1,1-11,1 \mu\text{g/mL}$). A diferença observada por estes autores não foi tão expressiva como as obtidas neste estudo.

Um estudo em crianças conduzido por Nguyen e colaboradores (2007) mostrou que não havia diferença entre o gênero na ausência de diabetes para o 1,5AG sérico (homens $24,57 \pm 5,01 \mu\text{g/mL}$ vs. mulheres $24,65 \pm 2,44 \mu\text{g/mL}$, $p=0,99$) ou presença de DM1 (homens $4,56 \pm 3,21 \mu\text{g/mL}$ vs mulheres $5,20 \pm 2,80 \mu\text{g/mL}$, $p=0,77$). É possível que as diferenças nas concentrações de 1,5AG apresentem uma relação específica entre idade e gênero. Em jovens, as concentrações de 1,5AG podem estar relacionadas às diferenças do *timing* e do *status* puberal, um período de resistência relativa à insulina (NGUYEN et al., 2007; MEHTA et al., 2011).

Confirmado o achado neste estudo, sugere-se que valores de referência para este parâmetro sejam disponibilizados por gênero. Esta informação é confirmada pelos estudos de Nowatzke e colaboradores (2004) tanto para a população americana quanto para a japonesa (Lana[®] 1,5AG Auto Liquid Package Inserte, 2000) que também demonstraram a necessidade da separação em intervalos sexo-dependentes.

Análise de correlação

As concentrações de 1,5 anidroglicitol apresentaram correlação significativa (Pearson) com alguns parâmetros em estudo.

Sexo

Os grupos controle e DM1 apresentaram correlação significativa e negativa com o sexo (gênero) (Tabela 14). Esta informação confirma as diferenças observadas na concentração de 1,5AG discutidas na tabela 13, com as mulheres apresentando concentrações menores do referido marcador quando comparadas a homens. Já os diabéticos tipo 2 não mostraram diferença entre gêneros, confirmando resultados de outros trabalhos (HERMAN et al., 2009)

Idade

A idade não foi correlacionada com o 1,5AG nos grupos diabéticos (Tabela 14). No grupo controle, no entanto, a idade foi negativamente correlacionada com a concentração de 1,5AG, o que concorda com Mehta e colaboradores (2011), mesmo após pareamento dos pacientes por sexo e HbA1C. Contudo, Tsukui e colaboradores (1996) não encontraram correlação significativa com a idade em um grupo controle de japoneses ($r=0,06$, $p=0,74$, $n=258$).

As figuras 10 A-C, mostram a associação do 1,5AG com a idade para os grupos em estudo. Esta análise reforça os dados da correlação para idade.

O grupo controle saudável (Figura 10 A) mostra que as concentrações de AG são muito dispersas e com uma tendência discreta de lenta redução à medida que a idade aumenta. Outros estudos também abordaram o efeito da idade em grupos saudáveis. Em dois destes estudos as diferenças não foram significativas (MCGILL et al., 2004; LI et al., 2008). No entanto, Mehta e colaboradores (2011) encontraram uma relação significativa ($p=0,004$), entre jovens com ≤ 18 anos ($25,9 \pm 5,7 \mu\text{g/mL}$) e jovens adultos >18 anos ($22,5 \pm 6,9 \mu\text{g/mL}$). Na população americana as concentrações de 1,5AG reduzem com a idade em ambos os sexos e população chinesa apenas no sexo masculino foi observada redução com a idade. O efeito oposto foi observado com o aumento do 1,5AG com a idade em mulheres chinesas. As diferenças descritas para as concentrações plasmáticas do 1,5AG relacionadas à idade podem estar associadas a alterações do limiar renal para glicosúria, o qual varia com a idade na ausência de diabetes ou doença renal (BUTTERFIELD et al., 1967; KILPATRICK et al., 1999).

No grupo DM1 as excursões hiperglicêmicas podem ser tão frequentes que independente da idade, as concentrações de 1,5AG estão abaixo de $10 \mu\text{g/mL}$ na maioria dos pacientes, explicando as baixas concentrações neste grupo (Figura 10

B). Mehta e colaboradores (2011) observaram diferença no grupo DM1 quando este foi subdividido em ≤ 18 anos e > 18 anos, para as concentrações de 1,5AG, com resultados similares aos descritos neste trabalho.

Nos pacientes com DM2 há um aumento do 1,5AG com a idade (Figura 10 C). Não há uma explicação convincente para este achado. A princípio julgou-se que este aumento do 1,5AG em DM2 associado à idade pudesse estar relacionado com a alteração do limiar renal. Mas Yamada e colaboradores (1996) demonstraram que as concentrações plasmáticas de 1,5AG não diminuem com a alteração da função renal caracterizada por creatininemia de até 4 mg/dL em pacientes com insuficiência renal aguda e insuficiência renal crônica ($23,2 \pm 8,4$ $\mu\text{g/mL}$ vs $21,0 \pm 9,4$ $\mu\text{g/mL}$). Somente quando a função renal reduz a menos de 25% (creatinina sérica $> 4,0$ mg/dL) na insuficiência renal crônica ocorre uma redução do 1,5AG ($19,0 \pm 5,9$ $\mu\text{g/mL}$ vs $7,2 \pm 4,1$ $\mu\text{g/mL}$). Neste contexto, sugere-se que novos estudos com desenho experimental específico para abordar este tema seja desenvolvido para elucidar o achado.

Glicemia em jejum e HbA1C

Foram mostradas as correlações entre o 1,5AG, glicemia em jejum e HbA1C na tabela 15. A estabilidade do controle glicêmico influencia esta análise (YAMANOUCHI *et al.*, 1989; YAMANOUCHI *et al.*, 1991; UMEDA *et al.*, 1991). Pacientes que apresentaram controle glicêmico estável por 1 a 2 meses, onde a glicose urinária de 24 horas também estaria controlada, o 1,5AG mostrou maior correlação com a HbA1C (YAMANOUCHI *et al.*, 1989). Os coeficientes de correlação (r) obtidos para DM2 (Tabela 15) são similares aos descritos por UMEDA e colaboradores (1991) em valores comparáveis de HbA1C ($8,0 \pm 2,3\%$ vs $7,9 \pm 0,7\%$), com correlação negativa entre o 1,5AG com HbA1C ($r = -0,595$) e glicemia em jejum ($r = -0,511$). O estudo realizado por Dworacka e Winiarska (2005) com pacientes DM2 apresentando HbA1C média de $7,0 \pm 2,3\%$ a correlação do 1,5AG com a glicemia em jejum foi negativa e significativa ($r = -0,31$, $p \leq 0,05$).

A grande variação encontrada nos estudos de correlação sugere que estes três marcadores glicêmicos são indicadores distintos de controle metabólico. Estudos de relação realizado entre o 1,5AG com HbA1C e glicemia em jejum reforçam esta observação. O padrão de associação entre HbA1C e glicemia de jejum com a concentração de 1,5 anidroglicitol é similar (Figura 11 A e B). Como

esperado, o aumento da concentração da HbA1C ou da glicemia está associado a redução da concentração de 1,5 anidroglicitol.

A melhor associação entre as concentrações do 1,5AG e HbA1C está na concentrações de 7 e 11% deste último parâmetro (Figura 11 A). O mesmo pode ser observado com o 1,5AG que está mais relacionado com a glicemia quando esta se encontra entre 150 a 400 mg/dL (Figura 11 B).

Analizando a relação entre 1,5AG e HbA1C (Figura 11 A) pode-se concluir que o melhor intervalo de correlação ocorre entre 7 - 9% de HbA1C, havendo perda significativa de relação em valores acima ou abaixo desta região. Ou seja, concentrações dentro dos valores de referência tem baixa associação entre os elementos em estudo, o 1,5AG se mostra relevante nas concentrações em que a HbA1C apresenta valores extremos.

Perfil lipídico

O perfil lipídico apresentou correlação significativa e negativa apenas para o colesterol total e LDL-colesterol no grupo controle, mas com coeficiente de correlação ($r < -0,10$) baixo (Tabela 14). Estes resultados concordam com os de Januszewski e colaboradores (2012) que não encontraram correlação com perfil lipídico em nenhum dos grupos estudados.

Creatinina

A creatinina apresentou correlação positiva e significativa ($r=0,125$, $p=0,004$) com o 1,5AG, apenas no grupo controle (Tabela 14). Januszewski e colaboradores (2012) encontraram correlação com a creatinina apenas no grupo DM1 ($r=0,24$, $p=0,01$). Mehta e colaboradores (2011) também acharam associação entre creatinina e 1,5AG apenas no grupo DM1, mas após a correção por gênero e HbA1C, esta associação deixou de ser significativa.

No estudo realizado por Yamada e colaboradores (1996) foi encontrado forte correlação negativa entre o 1,5AG e a creatinina em indivíduos com insuficiência renal crônica não diabética, mas não na forma aguda da doença, o que fez os autores sugerirem a necessidade do ajuste das concentrações do 1,5AG pela creatinina plasmática neste grupo em particular. É possível que os diferentes critérios de seleção da amostra afetem os resultados de correção com

biomarcadores de rotina. A tentativa de realizar esta correção no presente estudo não apresentou melhorias nos resultados encontrados.

Ácido úrico

A correlação positiva e significativa em todos os grupos do 1,5AG com a concentração sérica de ácido úrico foi identificada neste estudo (Tabela 14). Koga e colaboradores (2009) apontam no mesmo sentido estudando numa população apenas masculina com normo e hiperuricemia ($r = 0,223$, $p=0,0048$).

Golembiewska e colaboradores (2005) mostraram que a excreção do ácido úrico se correlaciona com glicemia em jejum e HbA1C, sugerindo uma relação entre o controle glicêmico e o processamento renal do ácido úrico. Neste estudo, a HbA1C foi um forte preditor independente de parâmetros associados ao metabolismo do ácido úrico.

Gotoh e colaboradores (2005) demonstraram uma forte correlação entre o ácido úrico e o 1,5AG em pacientes diabéticos. Estes autores sugerem que as reduções nas concentrações plasmáticas do ácido úrico são mediadas pelo aumento na excreção urinária de glicose, fundamentados na excreção urinária do 1,5AG relacionada à glicosúria. Porém, Koga e colaboradores (2009) além de não encontrarem correlação com HbA1C, apenas com glicose 2-h pós-sobrecarga ($r = 0,205$, $p=0,0097$), mostraram que a associação entre o 1,5AG e ácido úrico também ocorre em indivíduos com tolerância normal à glicose e sem glicosúria. Estes autores sugerem que o 1,5AG compartilha um sistema de transporte de reabsorção renal com o ácido úrico.

Embora as concentrações plasmática de 1,5AG e ácido úrico sejam mantidas por reabsorção tubular, o mecanismo de sistema de reabsorção não está completamente elucidado. Segundo Vitart e colaboradores (2008) o processamento tubular renal do ácido úrico está associado a um transportador de frutose (SLC2A9) e que o 1,5AG compartilha um sistema de transporte dos carboidratos manose e frutose, que é diferente do transportador de glicose. Assim, estes transportadores podem ser candidatos da via comum do 1,5AG e ácido úrico, explicando a correlação entre estas biomoléculas observada no presente estudo (VITART et al., 2008).

Avaliação dos biomarcadores em bom e mau controle glicêmico

Pacientes com diabetes (DM1 e DM2) classificados segundo o controle glicêmico utilizando separadamente os critérios de glicemia em jejum e HbA1C foram correlacionados com a concentração de 1,5AG (Tabela 15). Nos diabéticos com bom controle glicêmico, independente do tipo, a correlação com 1,5AG não foi significativa ($p>0,05$).

Somente quando o controle glicêmico foi inadequado, identificado pela glicemia de jejum ou pela HbA1C foi observada uma correlação negativa e significativa ($p<0,05$) com as concentrações de 1,5AG. As correlações com o DM2 foram melhores (coeficiente de correlação, $r > -0,50$) quando comparadas com diabéticos DM1. Estes resultados eram esperados uma vez que já havia sido reportado que HbA1C se correlacionava melhor com a glicemia média em pacientes DM2 em comparação a DM1, e como neste grupo o 1,5AG está melhor correlacionado com HbA1C se esperaria o mesmo efeito (BAKER et al., 1985; SERVICE et al., 1987).

Quando as características dos três biomarcadores para controle glicêmico em estudo, 1,5AG, HbA1C e glicemia em jejum foram avaliadas em pacientes com controle adequado e inadequado, todos os marcadores apresentaram diferenças significativas ($p<0,001$) entre os grupos (Figura 12 A-C).

Na comparação entre os biomarcadores, o 1,5AG não apresentou uma discriminação entre diabéticos, expressivamente superior aos demais marcadores (Figura 12 A). Diabéticos com bom controle apresentaram média de 1,5AG superior a 10 $\mu\text{g/mL}$, valores que correspondem aos descritos em outros trabalhos citados.

A HbA1C e a glicemia em jejum foram biomarcadores que discriminaram melhor que o 1,5AG os grupos com bom e mau controle glicêmico entre os diabéticos (Figura 12 B e C).

Dworacka e Winiarska (2005) encontraram que na presença de baixas concentrações de 1,5AG, a HbA1C pode indicar, ambos, um controle glicêmico bom ou inadequado. No entanto, nas concentrações elevadas de 1,5AG, a HbA1C foi baixa, indicando bom controle glicêmico. Portanto, o 1,5AG é um marcador de controle glicêmico complementar, mas não alternativo à HbA1C.

5.3 RESULTADOS DAS PACIENTES DIABÉTICAS GESTACIONAIS

As características clínicas e antropométricas das pacientes gestantes na presença (DMG) e ausência (controles) do diabetes gestacional esta na Tabela 16.

TABELA 16. CARACTERÍSTICAS ANTROPOMÉTRICAS E CLÍNICAS DAS GESTANTES DIABÉTICAS NA AMOSTRA EM ESTUDO.

Parâmetros	Controle Média ± DP M [AV]	GDM Média ± DP M [AV]	p
n	277	281	
Idade (anos)	24,4±6,2 23[14-42]	31,9±6,1 32[15-49]	<0,001
Etnia (%)			
Euro-Brasileiros	-	87,6	-
Afro-Brasileiros	-	12,4	-
Peso (kg)	66,5±12,7 64,5[39,7-140]	84,2±17,6 82[50,9-153]	<0,001
Altura (cm)	161,4±0,06 162[140-180]	159,8±0,06 160[132-180]	0,001
IMC (kg/m ²)	25,5±4,4 24,5[16,5-53,3]	32,9±6,3 32[21,2-51,8]	<0,001
Semana de gestação	26,6±8,7 25[4-39]	30,7±5,0 31[13-39]	<0,001
PAS (mmHg)	106,5±11,6 110-80-190]	117,8±13 120[88-170]	<0,001
PAD (mmHg)	65,8±8,7 60[40-110]	73,7±10,2 70[50-100]	<0,001
Fator de risco para DMG	-	83,4	-
Tabagismo (%)	-		
Não fumante	-	60,9	-
Ex-fumante	-	31,4	-
Fumante	-	7,7	-
História familiar de DM (%)	-	68,6	-
DAC (%)	-	67,4	-
Uso de insulina (%)	-	31,0	-

Os dados são apresentados em média±1-desvio padrão, mediana [amplitude de variação] ou porcentagem.

p, probabilidade, teste de Mann-Whitney.

DAC, doença arterial coronariana, PAD, pressão arterial diastólica, PAS, pressão arterial sistólica,

A Tabela 17 mostra as concentrações dos parâmetros laboratoriais em estudos para o estudo com gestantes.

TABELA 17. COMPARAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DOS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS EM GESTANTES SAUDÁVEIS E COM DIABETES GESTACIONAL.

Parâmetros	Controle Média ± DP M [AV]	GDM Média ± DP M [AV]	p
n	277	281	
Glicemia jejum (mg/dL)	81,7±7,4 81[60-99]	93,2±21,6 88,6[60-248]	<0,001
1,5AG µg/mL	16,1±8,3 14,9[2,8-50]	9,7±4,9 9,5[0,9-27,8]	<0,001
HbA1C (%)	-	5,7±0,64 5,6[4,3-8,7]	-
Colesterol (mg/dL)	207,8±63,2 203[87-483]	226,8±46,7 222[74-347]	<0,001
HDL-C (mg/dL)	51,5±13,3 50[25-93]	55,4±13,5 54[15-106]	0,001
LDL-C (mg/dL)	129±48,5 117[29-370,8]	125,5±40,9 126[21-237]	0,896
Triglicérides (mg/dL)	136,2±67,7 122,5[38-449]	231,8±79,4 221[65-560]	<0,001
Proteína Total (g/dL)	6,9±0,6 6,9[3,9-8,4]	6,4±0,58 6,3[4,3-10,1]	<0,001
Albumina (g/dL)	3,7±0,4 3,8[2,5-4,9]	3,4±0,36 3,5[2,2-4,3]	<0,001
Creatinina (mg/dL)	0,75±0,11 0,70[0,50-1,30]	0,68±0,12 0,70[0,40-1,30]	<0,001
Uréia (mg/dL)	21,9±6,8 21[8-43]	16,4±5,0 16[5,0-48]	<0,001
Ácido úrico (mg/dL)	3,7±0,78 3,7[1,8-7,0]	4,5±0,94 4,4[1,8-7,8]	<0,001
TOTG 2 h (mg/dL)	-	169,2±32,9 162[115-332]	-

Os resultados são: Média ±1-DP e Mediana [amplitude de variação (AV)].
p, probabilidade teste Mann-Whitney.

A análise de correlação de Pearson para variáveis antropométricas e laboratoriais esta apresentada na Tabela 18.

TABELA 18. CORRELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES DE 1,5 ANIDROGLUCITOL E PARÂMETROS LABORATORIAIS

1,5 anidroglucitol		
Parâmetros	Controle	DMG
Idade	-0,148 (p=0,016)	-0,041 (p=0,580)
IMC	-0,160 (p=0,009)	-0,010 (p=0,876)
Glicemia de jejum (mg/dL)	0,139 (p=0,023)	-0,182 (p=0,013)
HbA1C (%)	-	-0,222 (p=0,002)
Colesterol (mg/dL)	-0,363 (p<0,001)	0,065 (p=0,381)
HDL-C (mg/dL)	-0,312 (p=0,001)	-0,064 (p=0,390)
LDL-C (mg/dL)	-0,286 (p=0,001)	0,092 (p=0,214)
Triglicérides (mg/dL)	-0,357 (p=0,001)	0,010 (p=0,890)
Proteína Total (g/dL)	0,318 (p=0,001)	-0,079 (p=0,283)
Albumina (g/dL)	0,081 (p=0,188)	0,004 (p=0,958)
Creatinina (mg/dL)	0,147 (p=0,017)	0,065 (p=0,383)
Uréia (mg/dL)	0,401 (p=0,001)	-0,006 (p=0,938)
Ácido úrico (mg/dL)	0,121 (p=0,049)	0,266 (p<0,001)

Controle, gestantes saudáveis, DMG, pacientes com diabetes gestacional, IMC índice de massa corpórea.

Coeficiente de correlação linear (r) de Pearson.

O comportamento da concentração de 1,5AG em relação a evolução da gestação em pacientes saudáveis e com DMG é mostrada nas Figuras 13 e 14.

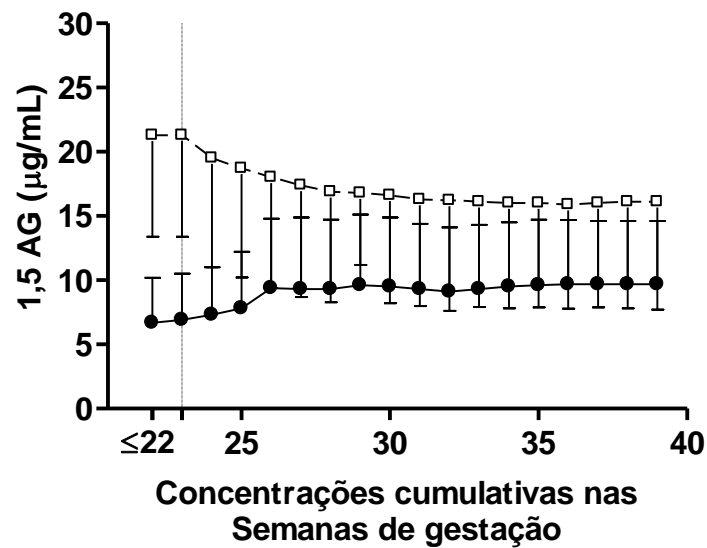


FIGURA 13. COMPORTAMENTO DA CONCENTRAÇÃO DE 1,5 ANIDROGLUCITOL DURANTE A GESTAÇÃO EM PACIENTES SAUDÁVEIS E COM DMG.

A concentração de 1,5AG foi plotada de forma cumulativa (início→fim) nas semanas de gestação. Quadrados abertos representam a média e as barras horizontais 1-desvio padrão para o grupo controle e os círculos fechados representam as pacientes com DMG. A linha vertical tracejada representa a semana 23, limite de maior discriminação.

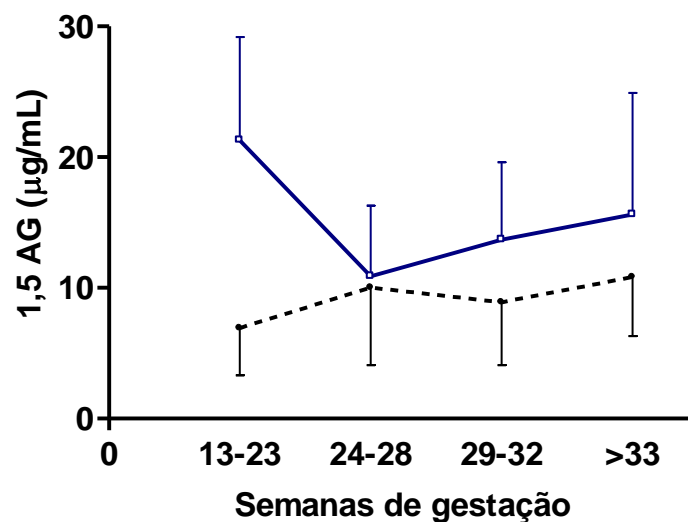


FIGURA 14. RELAÇÃO ENTRE AS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE 1,5 ANIDROGLUCITOL EM QUATRO PERÍODOS DA GESTAÇÃO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS E COM DIABETES GESTACIONAL

Quadrados abertos representam a média e as barras horizontais 1-desvio padrão para o grupo controle e os círculos fechados representam as pacientes com DMG

Na Tabela 19 estão descritas as comparações entre os marcadores de controle glicêmico (1,5AG, glicemia em jejum e HbA1C) entre gestantes saudáveis e com DMG classificadas por períodos da gestação.

TABELA 19. COMPARAÇÃO ENTRE BIOMARCADORES DE CONTROLE GLICÊMICO EM PERÍODOS DA GESTAÇÃO EM GESTANTES SAUDÁVEIS E COM DIABETES GESTACIONAL.

Semana de gestação	Parâmetros (n=50 por grupo)	Controle Média±DP M[AV]	GDM Média±DP M[AV]	p
(13-23)	1,5AG (µg/mL)	21,3±7,9 21,6[2,8-50]	6,9±3,6 6,1[2,9-16,5]	<0,001
	Glicose jejum (mg/dL)	83,4±7,1 83[63-99]	125,9±34,5 115[99-248]	<0,001
	HbA1C (%)	-	6,1±0,8 5,95[4,5-8,3]	
(24-28)	1,5AG (µg/mL)	10,9±5,4 11,4[1,4-23,4]	10±5,9 10[1,5-27,8]	0,242
	Glicose jejum (mg/dL)	80,5±7,6 79,5[60-99]	99,6±27,8 91[7,1-233]	<0,001
	HbA1C (%)	-	5,7±0,7 5,6[4,9-8,7]	
(29-32)	1,5AG (µg/mL)	13,7±5,9 13,5[4,9-28,5]	8,9±4,8 8,6[0,9-23,7]	<0,001
	Glicose jejum (mg/dL)	80,5±7,0 79[61-98]	89±14,8 87[61-162]	<0,001
	HbA1C (%)	-	5,6±0,5 5,6[4,3-7,1]	
(≥33)	1,5AG (µg/mL)	15,6±9,3 13,3[2,9-47,9]	10,8±4,5 10,6[1,6-21,7]	0,006
	Glicose jejum (mg/dL)	81,1±7,5 82[65-95]	87,3±11,9 86[60-128]	0,002
	HbA1C (%)	-	5,7±0,6 5,6[4,3-8,1]	

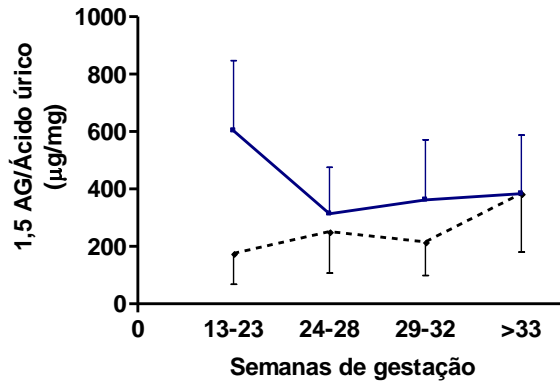
Os grupos Controle e DMG foram pareados com tamanho amostral de 50 gestantes por grupo em cada período estudado.

Os valores representam a média±1-desvio padrão, mediana e [amplitude de variação]

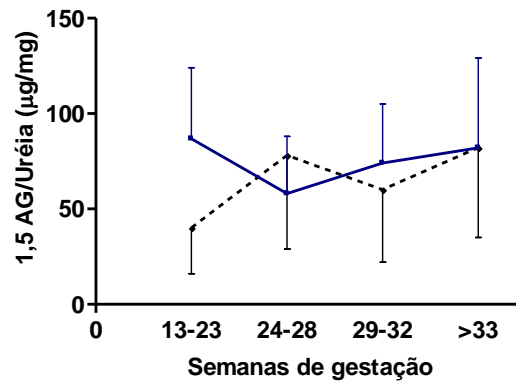
p, probabilidade com o teste de Mann-Whitney.

A razão da concentração sérica de 1,5AG com marcadores de função renal (uréia, creatinina e ácido úrico) em quatro diferentes períodos da gestação são apresentados na Figura 15 (A-C) para gestantes saudáveis e com DMG.

A. Razão 1,5AG/Ácido úrico



B. Razão 1,5AG/Uréia



C. Razão 1,5AG/Creatinina

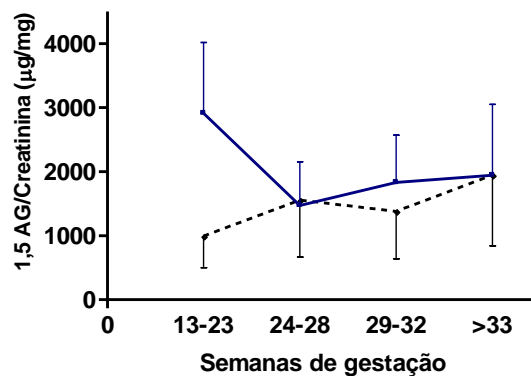


FIGURA 15. RELAÇÃO ENTRE AS RAZÕES DAS CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE 1,5 ANIDROGLUCITOL E MARCADORES DE FUNÇÃO RENAL EM QUATRO PERÍODOS DA GESTAÇÃO.

As figuras 15 A-C mostram respectivamente o comportamento em quatro períodos da gestação das razões das concentrações séricas de 1,5 anidroglucitol com o ácido úrico, ureia e creatinina. O grupo de gestantes saudáveis está marcado em linha contínua, as pacientes com DMG em linha tracejada. Os pontos representam a média e as barras verticais 1-desvio padrão.

5.4 ANÁLISE DOS ESTUDOS COM PACIENTES COM DIABETES GESTACIONAL

Gestantes com diabetes apresentaram características antropométricas e clínicas distintas de gestantes saudáveis (Tabela 16).

Idade

As pacientes com Diabetes gestacional (DMG) apresentaram idade média significativamente superior ($31,9 \pm 6,1$ anos vs $24,4 \pm 6,2$ anos, $p < 0,001$) as do grupo controle saudável (Tabela 16). Este achado é compatível com outros trabalhos, que apontam o aumento da idade como um fator de risco para o DMG (COUSTAN et al., 1989; ALMEIDA, 1998; AZEVEDO et al., 2002).

Etnia

A prevalência de mais de 85% da população com DMG pertencer à etnia Euro-brasileira é uma característica da população atendida no Hospital de Clínicas da UFPR, local de obtenção das amostras (Tabela 16). As gestantes do grupo controle não tem esta informação, pois a etnia não consta dos formulários de atendimento de gestantes da Prefeitura Municipal de Curitiba, onde as amostras foram obtidas.

IMC

O índice de massa corpórea (IMC) também foi significativamente maior nas pacientes com DMG quando comparadas ao grupo controle ($32,9 \pm 6,3$ vs. $25,5 \pm 4,4$ kg/m², $p < 0,001$) como mostrado na Tabela 16. Este achado era esperado uma vez que o excesso ponderal é um fator de risco para a resistência à insulina e ao DMG (SOLOMON et al., 1997; HU et al., 2001; TORLONI et al., 2009).

Tabagismo

Cerca de 40% das gestantes tiveram contato com o tabaco (fumantes e ex-fumantes), caracterizando a relevância deste fator de risco para o diabetes (Tabela 16). Este dado é semelhante com o percentual de gestantes tabagistas da Europa, África do Sul e Austrália (20-45%). Por outro lado, representa aproximadamente o

dobro de mulheres grávidas que fazem o uso de tabaco (~20%) na América do Sul e Canadá (ZELIKOFF, 2007).

Recém-nascidos de mães tabagistas apresentam maior risco de desenvolvimento de asma, câncer, diabetes tipo 2, obesidade e desordens neurológicas com o tempo (MONTGOMERY e EKBOM, 2002). O risco para o desenvolvimento do diabetes tipo 2, em especial, é decorrente de uma má nutrição fetal, no período intrauterino, associado ou não à exposição aos agentes tóxicos oriundos do hábito tabagista materno.

Portanto, a criação de programas de prevenção e combate ao fumo, para indivíduos tabagistas crônicos são relevantes (REYNOLDS et al., 2011).

Este tópico se faz importante apenas para caracterizar as amostras das gestantes em estudo, sendo que a relação das gestantes fumantes com 1,5AG não foi avaliada em destaque.

História familiar de diabetes e DAC

Embora não tenha sido possível comparar com o grupo controle, por falta desta informação no prontuário destas pacientes, é notável a elevada frequência de história familiar de diabetes (67%) nas pacientes do grupo DMG (Tabela 16). Esta informação pode ser considerada como um dos principais indicadores de risco para o DMG o que é confirmado em outros estudos (O'SULLIVAN, 1991; DORNHORST e ROSSI, 1998; DETSCH et al., 2011).

Cerca de 30% das pacientes do grupo DMG estudadas fazem uso de insulina (Tabela 16), proporção similar a observada em outro trabalho (CORRÊA e GOMES, 2004). A insulina é o hipoglicemiante de primeira escolha para pacientes com DMG que não conseguem manter controle glicêmico com a adequação da dieta. Estas pacientes, portanto caracterizam o subgrupo das DMG com controle glicêmico inadequado.

Marcadores laboratoriais

Todos os marcadores laboratoriais estudados (Tabela 17) apresentaram concentrações significativamente diferentes ($p < 0,001$) entre os grupos controle e DMG, exceto para a estimativa do LDL-colesterol, que não diferiu ($p = 0,896$).

É conhecido que a concentração do 1,5AG reduz durante a gestação. De fato, os valores observados neste estudo, comparando gestantes diabéticas e não

diabéticas (Tabela 17), estão em concordância com outros trabalhos publicados (TETSUO et al., 1990; KILPATRICK et al., 1999).

A concentração de 1,5AG foi em média 1,6 vezes menor no grupo DMG, quando comparado ao controle ($9,7 \pm 4,9$ vs. $16,1 \pm 8,3$ $\mu\text{g/mL}$). Tetsuo e colaboradores (1990) relataram um padrão similar, com concentrações médias de 1,5AG de $10,2 \pm 4,6$ $\mu\text{g/mL}$ para diabéticas gestantes e $18,6 \pm 5,2$ $\mu\text{g/mL}$ para o grupo de gestantes saudáveis, o que representa uma diferença de 1,8 vezes. A diferença entre os grupos para o 1,5AG era esperada pela presença da hiperglicemia associada ao DMG. No entanto, considerando que na média as pacientes do grupo DMG apresentam bom controle glicêmico (HbA1C 5,7%) (Tabela 17), não seria esperado uma diferença na concentração de 1,5AG tão expressiva. Um aumento de 50% na taxa de filtração glomerular ocorre no início da gravidez (DAVISON e DUNLOP, 1980). Isto poderia explicar a diminuição da concentração plasmática do 1,5AG a partir da 9ª semana de gestação.

A diferença na concentração do 1,5AG entre os grupos controle e diabético, fizeram com que Tetsuo e colaboradores (1990) sugerissem este composto como uma alternativa útil para a detecção de uma discreta alteração do metabolismo de carboidratos que passa despercebida pelos testes de curva glicêmica (TOTG) e HbA1C.

Para o perfil lipídico, foi observada uma elevação significativa nas concentrações do colesterol total e triglicérides no grupo DMG em relação às gestantes saudáveis (Tabela 17). É reconhecido que uma alteração do metabolismo da glucose, afeta o metabolismo dos lípidos circulantes no sentido aterogênico (BUTTE, 2000; TOESCU et al., 2004). Neste contexto, os achados neste estudo corroboram com estes trabalhos.

Em concordância com outros trabalhos (MEGAHED e TAHER, 2004; KALE et al., 2005), o grupo DMG apresentou concentrações plasmáticas menores de albumina quando comparado ao grupo controle. Comparada à uma mulher sem diabetes, mulheres normoalbuminúricas com diabetes possuem um aumento expressivo de 3 a 4 vezes na excreção urinária de albumina após a 20ª semana de gestação, explicando as diferenças observadas (BIESENBACH e ZAZGORNIK, 1989; MCCANCE et al., 1989).

As concentrações séricas dos marcadores de função renal, uréia e creatinina, foram significativamente ($p < 0,001$) menores no grupo DMG em relação ao controle

(Tabela 15). O aumento do fluxo urinário, potencializado pela hiperglicemia das pacientes com DMG explica a diferença observada nestes marcadores (POWE e THADHANI, 2011). Está bem estabelecido que a filtração glomerular está aumentada nos estágios iniciais do diabetes (MOGENSEN, 1971; BERG e THALME, 1984). A fisiologia do processo não é completamente compreendida (SANDAHLCRISTIANSEN et al., 1986). O aumento do tamanho renal e mudanças estruturais glomerulares tem sido sugeridas como fatores relevantes nestas alterações em combinação com vários outros fatores que cooperam para aumento da pressão de filtração sobre a membrana glomerular (MOGENSEN, 1971; MOGENSEN e CHRISTENSEN, 1985). Após a instituição da terapia com insulina a taxa de filtração glomerular rapidamente retorna ao normal.

Contudo, Güngör, Danisman e Mollamahmutoglu (2006) encontraram que a creatinina foi significativamente maior nas pacientes com DMG que no grupo controle, o mesmo achado de Kale e colaboradores (2005), mas neste caso estatisticamente não significativo para os resultados de 2005. Novamente, estas discrepâncias podem ser explicadas pelas características da seleção dos grupos em estudo (GÜNGÖR et al., 2006), pois as concentrações médias de uréia e creatinina sugerem que os grupos em estudo não apresentam uma alteração da função renal clinicamente relevante, uma vez que a presença de uremia também leva a diminuição do 1,5AG (SERVO e PITKÄNEN, 1975), fato esse ainda não bem esclarecido.

A concentração de ácido úrico foi superior 0,8 mg/dL em média no grupo com DMG em relação ao controle ($4,5 \pm 0,94$ vs. $3,7 \pm 0,78$ mg/dL, $p < 0,001$) (Tabela 17). Esta observação relevante já foi descrita em outras análises de pacientes diabéticos, e descrito em outros trabalhos (SEGHIERI et al., 2003; YOO et al., 2005). Santos e colaboradores (2010) mostraram que no grupo DMG a elevação do ácido úrico está associada à resistência à insulina e à hipertensão, que predominam neste grupo, o que já havia sido sugerido por Yoo e colaboradores (2005).

Embora não tenha sido possível a comparação com o grupo controle, a glicemia 2-horas após a administração oral de 75g de glicose (TOTG 2h) foi em média superior ao valor de corte (≥ 140 mg/dL) para diagnóstico do diabetes. Este achado sugere que esta medida foi relevante para o diagnóstico do diabetes gestacional nas pacientes em estudo (EVENSEN, 2012).

Análise de correlação

A correlação das concentrações séricas de 1,5AG com parâmetros laboratoriais apresentou resultados diferentes na presença e ausência do diabetes (Tabela 18).

Perfil lipídico

Enquanto correlações negativas e significativas ($p \leq 0,001$) foram observadas com o perfil lipídico no grupo controle, no grupo DMG esta correlação não está presente (Tabela 18). Como esperado, as alterações metabólicas associadas ao DMG afetam os elementos do perfil lipídico, e modificam a correlação com o 1,5AG sérico.

Watanabe e colaboradores (2011) não acharam correlação entre o perfil lipídico (HDL-colesterol e colesterol total) e o 1,5AG, tanto no grupo controle como naquele com diabetes gestacional. Além das diferenças nas populações em estudo não há explicação clara para a divergência entre este trabalho e o nosso.

Ácido úrico

O ácido úrico foi o único parâmetro que apresentou correlação significativa e positiva com o 1,5AG nos dois grupos (Tabela 18), a semelhança do observado para os diabetes tipos 1 e 2 descritos anteriormente (Tabela 12). Esta associação do ácido úrico com todos os tipos de diabetes em estudo reforça o envolvimento deste marcador com o processo fisiopatológico envolvido nesta doença. A discussão apresentada para os diabéticos não-gestantes se aplicam neste tópico.

Glicemia em jejum e HbA1C

O 1,5AG também foi negativa e significativamente correlacionado com a glicemia em jejum e com a HbA1C no grupo DMG (Tabela 18). Este resultado era esperado uma vez que a elevação da glicemia e da HbA1C estão associados a picos de hiperglicemia o que condiciona a redução do 1,5AG sérico. No estudo realizado por TAM e colaboradores (2001), uma correlação negativa não significativa entre o 1,5AG e glicemia em jejum ($r = -0,070$, $p = 0,34$) foi observada. Neste estudo o pequeno tamanho amostral, compreendendo 185 gestantes, mas apenas 4 com DMG e 59 intolerantes à glicose pode explicar a divergência com esse estudo. Dworacka e colaboradores (2005) encontraram uma correlação significativa entre

1,5AG e índices de excursões diárias de glicose com $r = -0,30$. Também foi mostrado por estes autores correlação entre 1,5AG e HbA1C, em concordância com o presente estudo.

O uso do 1,5AG como marcador para triagem ou mesmo para o diagnóstico do DMG é controverso. Enquanto vários autores não recomendam o 1,5AG durante a gestação (KILPATRICK et al., 1999; TAM et al., 2001; BUSE et al., 2003) em menor número, outros trabalhos advogam seu emprego no controle glicêmico (DWORACKA et al., 2005) e mesmo na triagem do diabetes gestacional (TETSUO et al., 1990). Já Christensen e Williams (2009), em seu trabalho de revisão em 2009, concluíram que ainda são necessários mais estudos para definir a utilidade do 1,5AG na gestação.

Kilpatrick e colaboradores (1999) demonstraram que a variabilidade no limiar renal para glicose em gestantes não diabéticas marcadamente influencia as concentrações plasmáticas de 1,5AG. Tam e colaboradores (2001) mostraram que o 1,5AG possui baixa acurácia na triagem de gestantes com intolerância a glicose, na ausência de diabetes gestacional.

Dworacka e colaboradores (2005) não encontraram associação entre o 1,5AG e a idade gestacional. A análise da concentração cumulativa de 1,5AG nas semanas de gestação mostra que no início da gestação a concentração de 1,5AG é significativa e expressivamente diferente entre os grupos controle e DMG (Figura 13) em concordância com Tetsuo e colaboradores (1990).

Após a 24ª semana as concentrações de 1,5AG se estabilizam e embora mantendo uma diferença significativa entre os grupos, este marcador perde sua capacidade de discriminação.

As características observadas anteriormente nos levaram a estudar o comportamento do 1,5AG em períodos da gestação, como mostrado na Figura 14. Fica explícito que no início da gestação, no período testado de 13 a 23 semanas, a concentração sérica de 1,5AG permite discriminar os grupos controle e DMG com elevada eficiência.

Desta forma, propomos que os fatores que influenciam o limiar renal possam ser mínimos no primeiro trimestre da gestação, permitindo que o 1,5AG possa discriminar gestantes diabéticas daquelas saudáveis. O uso do 1,5AG como ferramenta adjuvante à HbA1C no monitoramento para avaliar as concentrações

plasmáticas de glicose em gestantes com diabetes já havia sido recomendado (DWORACKA et al., 2005).

Após a 24ª semana, período onde predominam os hormônios que promovem resistência insulínica (hormônio lactogênico placentário, progesterona, cortisol, prolactina, glucagon, catecolaminas, hormônio do crescimento e tireoidiano) a concentração de 1,5AG deixa de ser um discriminador eficaz entre as gestantes saudáveis e aquelas com DMG. É relevante lembrar que o período entre a 24-28 semanas de gestação é aquele recomendado para o teste de triagem e o diagnóstico do diabetes gestacional, por propiciar a melhor sensibilidade nos ensaios de glicemia de jejum e em particular da glicemia pós-sobrecarga (2 horas após 75 g de ingesta de glicose). Portanto, o 1,5AG tem o potencial para ser um marcador precoce para DMG quando comparado àqueles que detectam alterações na concentração da glicemia.

Marcadores de controle glicêmico como HbA1C e a frutossamina tem sido utilizados como ferramentas de triagem no DMG, mas ambos com baixa sensibilidade, o que não os recomenda para uso diagnóstico (SHAH *et al.*, 1982; HUTER et al., 1992).

Com base neste achado, e nas restrições do uso do 1,5AG na gestação, decorrente das alterações do fluxo urinário e hemodinâmicas, discutidas anteriormente (página 107), a concentração de 1,5AG foi associada com outros marcadores de rotina envolvidos com a função renal, com o objetivo de buscar melhorar a capacidade discriminatória do 1,5AG entre os grupos em estudo. A abordagem adotada foi estudar a razão entre o 1,5AG e os marcadores ácido úrico, uréia e creatinina (Figuras 13 a 15).

As razões das concentrações de 1,5AG com ácido úrico, uréia e creatinina (Figura 15 A-C) não apresentaram um padrão de discriminação entre os grupos superior à concentração de 1,5AG isolada (Figura 14). Portanto, o cálculo das razões estudadas não apresentam vantagens para a discriminação de gestantes saudáveis e com DMG.

A característica discriminante do 1,5AG no início da gravidez foi comparada com a glicemia em jejum e HbA1C (Tabela 19). No início da gestação (13-23 semanas) a concentração média do 1,5AG no grupo controle foi cerca de 3 vezes superior a do grupo com DMG (21,3/6,9 µg/mL), similar ao descrito por Tetsuo e colaboradores (1990), o que pode apresentar o 1,5AG como um preditor precoce do

DMG se realizado até a 23ª semana da gestação. No período entre 24-28 semanas não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ($p=0,242$). Nos demais períodos estudados, 29-32 e ≥ 33 semanas a concentração de 1,5AG foi significativamente diferente ($p<0,001$) entre os grupos mas a razão entre estes foi cerca de 1,5 vezes, o que é insuficiente para uma discriminação sensível e específica.

Analisando os resultados em conjunto, a concentração sérica de 1,5AG permite a discriminação de gestantes saudáveis daquelas com DMG, até a 23ª semana, mas sem indicar melhor ou pior controle, e sim como auxiliar no diagnóstico. Após este período o 1,5AG não é um marcador sensível para identificar o DMG.

Esta informação é nova e se confirmada em outros estudos com diferentes populações e maior tamanho amostral, permitirá recomendar a determinação de 1,5AG como um marcador para triagem ou mesmo para o diagnóstico do DMG em estágios precoces da gestação.

Considerando os impactos deletérios da hiperglicemia sobre a gestante diabética e seu feto, uma detecção precoce do DMG permitiria uma intervenção rápida, minimizando os efeitos das complicações associadas ao diabetes gestacional.

5.5 RESULTADOS COMBINADOS DO GRUPOS DM1, DM2 E GESTACIONAL

Curvas de sensibilidade e especificidade (curvas ROC) foram construídas para identificar concentrações de 1,5AG discriminatórias (valores de corte) entre os grupos em estudo. As Figuras 16 e 17 mostram o efeito das concentrações de 1,5AG no DM2 e DM1, respectivamente, quando comparados a controles saudáveis.

DM2

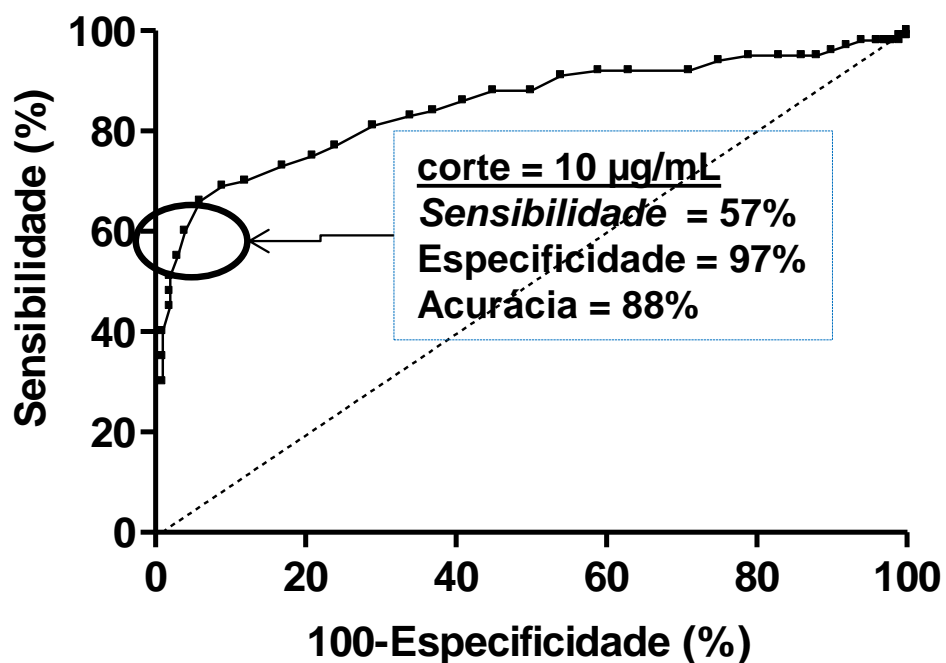


FIGURA 16. CURVA ROC (*RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC*) PARA OS GRUPOS CONTROLE E DM2.

Sensibilidade vs 100-Especificidade. A reta tracejada mostra a linha de conexão entre zero e 100%.

O quadro interno mostra com o destaque na curva (círculo) os valores de sensibilidade, especificidade, falso-positivo e falso-negativo com um valor de corte (*cutoff*) de 10 µg/mL.

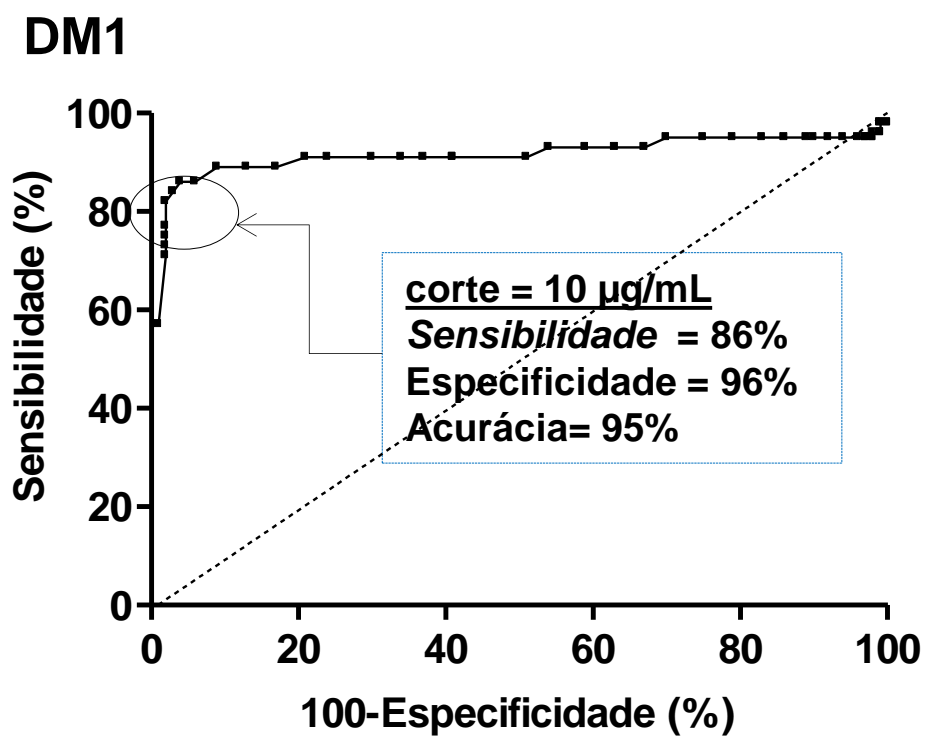


FIGURA 17. CURVA ROC (*RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC*) PARA OS GRUPOS CONTROLE E DM1.

Sensibilidade vs 100-Especificidade. A reta tracejada mostra a linha de conexão entre zero e 100%.

O quadro interno mostra com o destaque na curva (círculo) os valores de sensibilidade, especificidade, falso-positivo e falso-negativo com um valor de corte (*cutoff*) de 10 µg/mL.

A curva ROC (sensibilidade vs especificidade) para os diferentes períodos da gestação estudados esta apresentada na Figura 18.

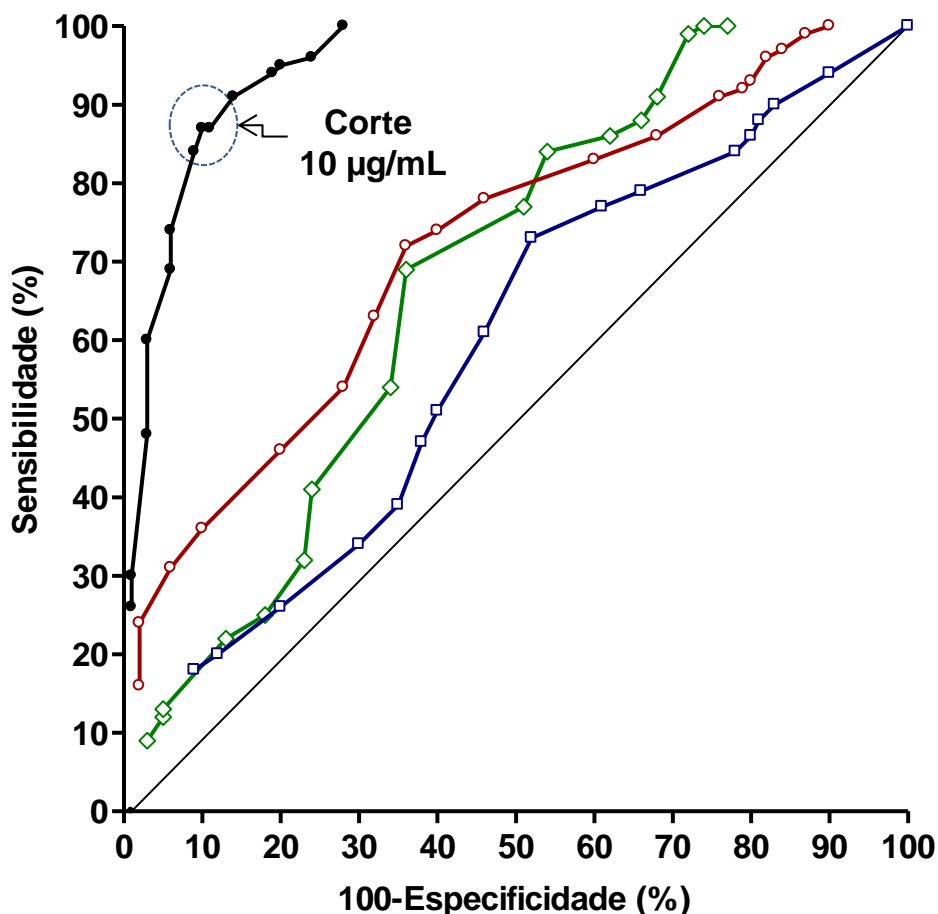


FIGURA 18. CURVA ROC (RECEIVER OPERATING CHARACTERISTIC) PARA GESTANTES EM QUATRO PERÍODOS DA GESTAÇÃO.

Sensibilidade vs 100-Especificidade. A reta mostra a linha de conexão entre zero e 100%. Círculos fechados (preto) mostram o período de 13-23 semanas, quadrados abertos (azul) período de 24-28 semanas, círculo aberto (vermelho) período de 29-32 semanas e losangos abertos (verde) o período igual ou superior a 33 semanas. O quadro interno mostra com o destaque na curva para o início da gestação de 13-23 semanas (círculo pontilhado) o valor de corte (*cutoff*) de 10 µg/mL.

As comparações entre diferentes concentrações de 1,5AG (pontos de corte) para os grupos de diabéticos em estudo estão apresentadas na Tabela 20.

TABELA 20. COMPARAÇÕES ENTRE PARÂMETROS DE SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE PARA VALORES DE CORTE NOS GRUPOS EM ESTUDO.

Diabetes	1,5AG* (µg/mL)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Acurácia (%)	FP (%)	FN (%)
DM1						
	9,0	82	98	96	21	2
	10,0	84	97	96	24	1,7
	11,0	86	96	95	31	1,5
	12,0	88	94	93	39	1,4
	13,0	90	91	91	49	1,2
DM2						
	8,0	47	98	86	9	14
	9,0	52	98	87	12	13
	10,0	57	97	88	13	12
	11,0	60	96	88	18	11
	12,0	66	94	88	22	10
	13,0	69	91	86	29	9
	14,0	70	87	84	36	9
	15,0	73	84	81	42	9
DMG (13-23 sem)						
	9,0	84	94	90	26	6
	10,0	87	94	93	23	3
	11,0	87	90	90	33	3
	12,0	87	89	89	35	3
	13,0	91	86	87	40	2

*valores de corte de 1,5 anidroglicitol (µg/mL) empregados no estudo com curvas ROC.

FP, falso positivo; FN, falso negativo.

Em destaque (retângulo cinza), para cada tipo de diabetes, a concentração de 10µg/mL selecionada como melhor valor de corte para diferenciação de grupos.

A Tabela 21 reporta os valores de referência para a concentração sérica de 1,5AG em indivíduos saudáveis na presença e ausência da gestação.

TABELA 21. VALORES DE REFERÊNCIA PARA 1,5 ANIDROGLUCITOL EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS.

Grupos		n	Média±D P	VR	Percentil				
					M	2,5	25	50	97,5
Controle	Total	539	23,3±8,0	7,3-39,3	23	10	17,2	29,1	39,4
	Homens	344	24,7±7,8	9,1-40,3	24,9	9,1	11,2	39,5	40,3
	Mulheres	195	20,9±7,9	5,1-36,6	20,5	6,9	15,0	26,9	36,4
Gestantes Saudáveis	Total	277	16,1±8,4	0-32,9	14,9	3,0	10,3	21,7	37,9
	Semanas gestação								
	13-23	101	21,3±7,9	5,5-37,1	21,6	5,1	16,2	26,0	37,3
	24-28	76	10,9±5,5	0-21,9	11,4	1,4	6,5	14,7	21,9
	29-32	50	17,3±5,9	5,5-29,1	13,5	5,2	8,4	15,8	29,6
	≥33	50	15,6±9,3	0-34,2	13,3	2,9	10,3	20,7	49,7

Concentração de 1,5 anidroglucitol em indivíduos saudáveis na presença e ausência de gravidez.

VR. valores de referência representados pela média±2-desvios padrões, bem como os valores entre os percentis 2,5-97,5, considerando uma distribuição que não apresenta normalidade.

DP. desvio padrão.

Em destaque (cor cinza) as concentrações em percentis.

5.6 ANÁLISE CONJUNTA DOS DIFERENTES TIPOS DE DIABETES

O uso do 1,5AG na triagem do diabetes é de interesse porque este biomarcador apresenta característica de modificação rápida (1-3 dias) à hiperglicemia. No entanto, sua aplicação neste contexto é controversa. Yamanouchi e colaboradores (1991) e Robertson e colaboradores (1991), concluíram que o 1,5AG é suficientemente sensível e específico para o diagnóstico do diabetes, enquanto Robertson e colaboradores (1993) apontam em sentido contrário. Em estudo multicêntrico Yamanouchi e colaboradores (1991) avaliaram 342 indivíduos com tolerância normal à glicose comparados a 460 pacientes diabéticos. Neste estudo, o ensaio de 1,5AG apresentou 84% de sensibilidade e 93% de especificidade como discriminador do diabetes, com valor de corte de 14 µg/mL.

Desta forma, com base na literatura e na observação da capacidade discriminante do 1,5AG no início da gravidez, foi avaliada a concentração deste biomarcador para os demais tipos de diabetes em estudo, bem como procurar estabelecer os valores de corte (*cutoff*) para esta aplicação.

A curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*) para o diabetes tipo 2 está mostrada na Figura 16. Para o DM2, não foi possível uma discriminação com acurácia superior a 90%. O melhor valor de corte para discriminação dos grupos foi 10 µg/mL com acurácia de 88%. Esta característica está em concordância com o estudo de Robertson e colaboradores (1993) que conclui que a acurácia diagnóstica foi pobre para qualquer valor de corte do 1,5AG, já que uma boa acurácia é esperada sempre quanto mais próxima a 100% possível.

O grupo DM1 apresentou uma característica diferente. A concentração de corte de 1,5AG de 10 µg/mL discriminou o grupo DM1 de controles saudáveis com sensibilidade de 84%, especificidade de 97% e acurácia de 96% (Figura 17). Concentrações de 9 a 11 µg/mL de 1,5AG produzem um efeito discriminante similar (Tabela 20). Portanto, pacientes com DM1 podem ser identificados pela determinação de 1,5AG. Novos estudos com maior tamanho amostral serão necessários para validar o efeito discriminante do 1,5AG em pacientes com DM1.

Yamanouchi e colaboradores (1991) encontraram para o mesmo valor de corte proposto (10 µg/mL de 1,5AG) a sensibilidade de 74,1% e especificidade de 97,4% na discriminação de DM1 e DM2, o que corrobora parcialmente com nossos achados.

Quando a curva ROC para o diabetes gestacional foi analisada por período de gestação (Figura 18), somente o período entre 13 a 23 semanas de gestação mostrou concentrações de 1,5AG com capacidade discriminante. Aplicando o valor de corte de 10 µg/mL foi possível discriminar pacientes com DMG de gestantes saudáveis no início da gestação (13-23 semanas) com sensibilidade de 87%, especificidade de 94% e acurácia de 93%. Para os períodos de gestação igual ou superior a 24 semanas o valor de 1,5AG não apresenta características discriminantes entre os grupos em estudo.

Em gestantes apresentando intolerância à glicose, TAM e colaboradores (2001) descrevem o 1,5AG como um marcador inadequado para a triagem de alterações glicêmicas. Estes autores, no entanto, não avaliaram as gestantes de modo similar ao realizado no presente trabalho, o que impossibilita uma comparação entre os experimentos.

Três marcadores para o diagnóstico do diabetes, glicemia de jejum, glicemia pós-sobrecarga e hemoglobina glicada são recomendados pelas principais sociedades mundiais (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2012; SBD, 2009). Entre os fatores que podem afetar o diagnóstico com o uso destes marcadores estão: a necessidade de jejum, a dificuldade de adesão para muitos indivíduos; a palatabilidade da glicose ingerida no ensaio de sobrecarga e a falta de um ensaio padronizado de hemoglobina glicada disponível em todos os laboratórios clínicos. E uma vez que os valores de HbA1C representem mudanças sobre os últimos 90 dias, existe um intervalo de tempo entre os valores atuais da glicemia e resposta à HbA1C que não é avaliado, nem mesmo pela frutossamina (Figura 3). Ainda, a glicemia pode se alterar rapidamente, não sendo verificada com a mesma velocidade.

O 1,5AG combina as características de ser um marcador precoce, com alteração significativa na concentração sérica entre 1 a 3 dias e permanece alterado por 1 a 3 semanas, não necessitando jejum para sua determinação.

Além disso, a padronização da dosagem de 1,5AG com controle de qualidade é mais simples que para HbA1C e frutossamina. Foi mostrado que o 1,5AG possui boa estabilidade na amostra e não sofre interferência significativa em condições de moderada hemólise (até 125 mg/dL de hemoglobina), icterícia (até 53 mg/dL de bilirrubina) e lipemia (até 1153 mg/dL de triglicerídeos), presença de glicose até 1000 mg/dL, de maltose até 500 mg/dL, ácido ascórbico até 25 mg/dL, ácido úrico até 20 mg/dL, creatinina até 10 mg/dL como descrito por Nowatzke e colaboradores

(2004). Não há diferença significativa entre soro ou plasma (YAMANOUCHI et al., 1991; MCGILL et al., 2004). Dessa forma, estas características tornam a quantificação enzimática e automatizada do 1,5AG simples e segura em termos metodológicos para o laboratório clínico de rotina.

Estas características, associadas à capacidade discriminante no grupo com DM1, nos faz propor que este marcador seja utilizado para a triagem ou diagnóstico do diabetes em amostras de sangue coletadas ao acaso.

Entre os diferentes estudos avaliados, apenas o presente e o realizado por Tetsuo e colaboradores (1990) avaliaram o efeito do 1,5AG no início da gestação. Possivelmente a incapacidade do 1,5AG em não discriminar o DMG está associada à presença de hormônios que promovem a resistência à insulina e fazem parte da fisiologia normal da gestação. Estes hormônios têm suas concentrações elevadas a partir da 24^a semana de gestação, o que coincide com o período de perda da acurácia do 1,5AG para o DMG. Este resultado aliado à necessidade de um teste de triagem para DMG com maior acurácia e mais precocemente para permitir um tratamento mais cedo, sugere que a triagem com o 1,5AG poderia fornecer estas características.

Uma hipótese pode ser formulada para a aplicabilidade do 1,5AG para triagem da DMG e DM1, mas não para o DM2, como mostrada neste estudo. Frattali e Wolf (1993) já haviam chamado a atenção para o fato de que embora as concentrações de 1,5AG em pacientes saudáveis e indivíduos diabéticos são significativamente diferentes, há um grande intervalo de sobreposição entre os dois grupos. Foi demonstrado neste estudo e em outros que as concentrações em DM1 são significativamente e consistentemente inferiores ao DM2 (PITKÄNEN, 1982; KAMETANI et al., 1987; YAMANOUCHI et al., 1992). Da mesma forma, este estudo e o realizado por Tetsuo e colaboradores (1990) demonstraram marcada redução dos valores de 1,5AG em gestantes diabéticas em relação a gestantes saudáveis, principalmente no primeiro trimestre (até 12 semanas).

Finalmente, analisando os resultados do 1,5AG para os pacientes saudáveis na presença e ausência de gravidez, foi estabelecido para a população em estudo valores de referência (Tabela 21). A nosso conhecimento, os valores descritos são os primeiros reportados para a população brasileira. Em adultos, as concentrações de 1,5AG foram separadas por gênero e os valores de referência foram descritos como a média ± 2 desvios padrões (95% dos dados) ou como o intervalo entre o

percentil 2,5 e 97,5% (95% dos dados) em distribuição que não segue a normalidade, como pode ser observado na Figura 9A.

Os intervalos de referência expressos em percentis para a população americana foram 5,9-31,8 $\mu\text{g/mL}$ para homens e 10,2-33,8 $\mu\text{g/mL}$ para mulheres (NOWATZKE et al., 2004) sendo estes valores inferiores ao da população japonesa (12,2-41,0 $\mu\text{g/mL}$ para homens e 9,5-33,5 $\mu\text{g/mL}$ para mulheres) já a população brasileira apresentou um intervalo intermediário (9,1-40,3 $\mu\text{g/mL}$ para homens e 6,9-36,4 mg/mL para mulheres) quando comparada com as populações anteriores, mas com uma maior amplitude de variação.

Já a proposta de intervalos de referência em gestantes é inédita, e tem o potencial de ser um fator relevante na interpretação das concentrações de 1,5AG associadas à gestação.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

O adequado controle glicêmico no paciente com diabetes está diretamente relacionado com a velocidade e severidade no desenvolvimento das complicações associadas à patologia. Portanto, métodos que identifiquem o “status” glicêmico do diabético são relevantes para o monitoramento e os processos terapêuticos associados à doença.

A HbA1C, considerada atualmente como “padrão ouro” para o controle glicêmico, e mais recentemente para o diagnóstico do diabetes, tem mostrado várias fontes de variabilidade associadas ao ensaio o que propicia contínuo interesse no uso de métodos alternativos para medidas integradas da glicemia.

As determinações de frutossamina e albumina glicada oferecem indicações de controle glicêmico em período de tempo significativamente menor em relação a HbA1C. Contudo, estas dosagens não se relacionam fortemente com a glicemia de jejum e são pouco sensíveis para o diagnóstico do DM2 (YAMANOUCHI et al., 1991). O ensaio de albumina glicada, que não está disponível atualmente na rotina laboratorial dos Estados Unidos ou Brasil, pode ser útil em situações em que a dosagem da HbA1C não é confiável, incluindo estados patológicos associados à hemodiálise, gravidez ou certas hemoglobinopatias. Também a determinação da albumina glicada está sujeita a fatores que promovem interpretações incorretas do ensaio, incluindo a obesidade, o fumo, e a hiperuricemia, situações de alta prevalência em pacientes com DM2 (ROOHK e ZAIDI, 2008).

Outro biomarcador do controle glicêmico que pode ser uma alternativa diagnóstica a ser utilizado em conjunto com a HbA1C e glicemia em jejum é o 1,5 anidroglucitol (1,5AG). O monitoramento da glicemia utilizando o 1,5AG tem o potencial de melhorar a sensibilidade e a especificidade no diagnóstico do diabetes, além de oferecer informação relevante quanto ao controle glicêmico. Notadamente, as concentrações séricas de 1,5AG constituem um índice de interesse especial em pacientes com HbA1C inferiores a 8% (BUSE et al., 2003; MCGILL et al., 2004; DUNGAN, 2008; RUBINOW e HIRSCH, 2011). Este grupo, que representa diabéticos com controle glicêmico intermediário, provavelmente tem no 1,5AG um elemento diferencial no diagnóstico. Da mesma forma que a hemoglobina glicada, o 1,5AG pode apresentar uma variabilidade étnica, como demonstrado em pacientes

de diferentes etnias com concentrações glicêmicas maiores que 200 mg/dl (HERMAN et al., 2009).

Novos estudos são necessários para avaliar o método automatizado do 1,5AG e estabelecer intervalos de referência para indivíduos saudáveis e pacientes com intolerância à glicose na população brasileira. A dosagem do 1,5AG é um teste sensível e específico para o diabetes na ausência de uremia mas a utilidade clínica e efetividade do custo em grandes triagens ainda não foi estabelecida (PITKÄNEN, 1982; YAMANOUCI et al., 1988; YAMANOUCI, 1989). Este é o contexto em que se insere o presente projeto.

Nossa experiência com o 1,5 anidroglicitol mostrou que este biomarcador tem comportamento diferente da HbA1C e da glicemia em jejum. 1,5AG, portanto, permite identificar eventos que não são rastreados pelos marcadores convencionais utilizados pelo laboratório.

Apesar da expressiva variabilidade nas concentrações de 1,5AG em indivíduos saudáveis e diabéticos, sua utilização é possível e mais relevante para a triagem do diabetes tipo 1 e para triagem e diagnóstico do diabetes gestacional unicamente no início da gestação (no período da 13ª até a 23ª semana). A confirmação dos nossos resultados com maior tamanho amostral e estudos em outras etnias, fornecerá ao laboratório clínico um ensaio rápido, automatizável, com um analito estável, com potencial para discriminar o diabetes gestacional no início da gestação.

Outras aplicações 1,5AG poderão ser identificadas com a continuidade dos estudos deste biomarcador.

7 CONCLUSÕES

- Pacientes com diabetes (DM1, DM2 e DMG) os valores de 1,5AG não apresentou1 correlação significativa com os componentes do perfil lipídico (colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol e triglicérides) ou com os marcadores de função renal (uréia e creatinina).
- O 1,5AG apresentou correlação significativa e positiva com o ácido úrico em todos os tipos de diabetes estudados.
- Entre os marcadores de rotina para o controle glicêmico (glicemia de jejum e HbA1C) somente a HbA1C apresentou correlação significativa e negativa com 1,5 AG para todos os tipos de diabetes em estudo.
- O 1,5AG não foi capaz de diferenciar com eficiência pacientes com diabetes tipo 2, de indivíduos saudáveis.
- A concentração sérica de 1,5AG de 10 µg/mL, selecionado por curva ROC, permite separar o grupo com diabetes tipo 1 de indivíduos saudáveis com sensibilidade (84%), especificidade (97%) e acurácia (96%).
- O 1,5AG pode ser utilizado para triagem e diagnóstico no período inicial da gestação (12-23 semanas), onde concentrações séricas <10 µg/mL permitem identificar gestantes diabéticas com sensibilidade (87%), especificidade (94%) e acurácia (93%) adequadas. Após a 24ª semana de gestação este biomarcador perde a acurácia, sendo ineficaz para triagem ou diagnóstico do DMG.
- Os valores de referência para a concentração sérica de 1,5AG (µg/mL) em indivíduos saudáveis, considerando uma distribuição de 2,5%-97,5%, foi 9,1-40,3 para homens, 6,9-36,4 para mulheres (não grávidas) e 3,0-37,9 para gestantes saudáveis.

- Em gestantes saudáveis os valores de referência para 1,5AG ($\mu\text{g/mL}$) se alteram significativamente durante o período de gestação, sendo no início 5,1-37,3 (13-23 semanas), 1,4-21,9 (24-28 semanas), 5,2-29,6 (29-32 semanas) e em períodos mais longos 2,9-49,7 (≥ 33 semanas).
- O 1,5 anidroglucitol como biomarcador para o diabetes tem características diferentes dos marcadores tradicionais o que permite capturar e estratificar novas e relevantes informações associadas ao diabetes, motivo pelo qual o recomendamos para ser introduzido na rotina laboratorial.

REFERÊNCIAS

AACE. DiabetesMellitus Clinical Practice Guidelines Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists - medical guidelines for clinical practice for the management of Diabetes Mellitus. **Endocr Pract**, v. 13, p. 1–66, 2007.

AACE. DiabetesMellitus Clinical Practice Guidelines Task Force. American Association of Clinical Endocrinologists - medical guidelines for clinical practice for the management of Diabetes Mellitus. **Endocr Pract**, v. 13, p. 1–66, 2009.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. *Diabetes mellitus* and other categories of description of diabetes. **World Health Org.**, v. 27, 2004.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. International association of diabetes and pregnancy study groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. **Diabetes Care**, v. 33, n. 3, p. 676-82, 2010.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Summary of Revisions for the 2012 Clinical Practice Recommendations. **Diabetes Care**, v. 35, n. Supplement_1, p. S3-S3, 2012.

AHLQVIST, E.; AHLUWALIA, T. S.; GROOP, L. Genetics of type 2 diabetes. **Clin Chem.**, v. 57, n. 2, p. 241-54, 2011.

AKANUMA, H; OGAWA, K.; LEE, Y.; AKANUMA, Y. Reduced levels of plasma 1,5-anhydroglucitol in diabetic patients. **J. Biochem.**, v. 90, n. 1, p. 157-162, 1981.

ALLEN, B. T.; DELONG, E. R.; FEUSSNER, J. R. Impact of Glucose Self-Monitoring on Non-Insulin-Treated Patients With Type II *Diabetes mellitus*. **Diabetes Care**, v. 13, n. 10, p. 1044-1050, 1990.

ALMEIDA, M. F. DE; JORGE, M. H. P. DE M. Pequenos para idade gestacional: fator de risco para mortalidade neonatal. **Rev. Saúde Púb.**, v. 32, n. 3, 1998.

ANAES. Follow-up of the type 2 diabetic patient excluding follow-up of complications: recommendations of ANAES [in French]. **Diabetes Metab**, v. 25, p. 1– 64., 1999.

ARAUJO, J.; BRANDÃO, L. A. C.; GUIMARÃES, R. L. SANTOS, S.; FALCÃO, E. A.; MILANESE, M.; SEGAT, L.; SOUZA, P. R.; DE LIMA-FILHO, J. L.; CROVELLA, S. Prevalence of autoimmune thyroid disease and thyroid dysfunction in young Brazilian patients with type 1 diabetes. **Ped Diabetes**, v. 9, n. 4 Pt 1, p. 272-276, 2008.

ARMBRUSTER, D. A. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. **Clin Chem**, v. 33, n. 12, p. 2153-2163, 1987.

AZEVEDO JR, G. D. DE; FREITAS JR, FREITAS, A. K. M. S. DE O.; ARAÚJO, A. C. P. F. DE; SOARES, E. M. M.; MARANHÃO, T. M. DE O. Efeito da idade materna sobre os resultados perinatais. **RBGO**, v. 24, n. 3, p. 181-185, 2002. SciELO Brasil.

BADMAN, M. K.; CHOWDHURY, T. A. Should thyroid function tests be done annually in all patients with diabetes? **Diabetic Med J of the British Diab. Assoc.**, 2002.

BAHIA, L.; GOMES, M.B.; CRUZ, P. M. DA; FÁTIMA GONÇALVES, M. DE. Doença Arterial Coronariana, Microalbuminúria e Perfil Lipídico em Pacientes com Diabetes Tipo 2. **Arq Bras Cardiol**, v. 73, n. 1, p. 11–16, 1999.

BAKER, J. R.; O'CONNOR, J. P.; METCALF, P. A.; LAWSON, M. R.; JOHNSON, R. N. Clinical usefulness of estimation of serum fructosamine concentration as a screening test for *Diabetes mellitus*. **British Med J Clin Research** v. 287, n. 6396, p. 863-867, 1983.

BAKER, J. R.; JOHNSON, R. N.; SCOTT, D. J. Serum fructosamine concentrations in patients with type II (non-insulin-dependent) *Diabetes mellitus* during changes in management. **Br Med J**, v. 288, p. 1484–1486., 1984.

BAKER, J. R.; METCALF, P. A.; HOLDAWAY, I. M.; JOHNSON, R.N. Serum fructosamine concentration as measure of blood glucose control in type I (insulin dependent) *Diabetes mellitus*. **Br Med J**, v. 290, p. :352–355., 1985.

BAKER, J.; METCALF, P.; TATNELL, M.; LEVER, M.; JOHNSON, R.N. Quality assessment of determinations of serum fructosamine in 33 clinical chemistry laboratories. **Clin. Chem**, v. 32, n. 6, p. 1371-1372, 1986.

BANERJEE, A.; DHILLON, I.; GHOSH, J.; SRA, S. Generative model-based clustering of directional data. Proceedings of the Ninth ACM SIGKDD international conference on Knowledge discovery and data mining KDD 03, **ACM Press**.p. 19, 2003.

BARBOUR, L. A.; MCCURDY, C. E.; HERNANDEZ, T. L. KIRWAN, J. P.; CATALANO, P.M.; FRIEDMAN, J. E. Cellular mechanisms for insulin resistance in normal pregnancy and gestational diabetes. **Diabetes care**, v. 30 Suppl 2, p. S112-9, 2007.

BARBUI, E. C.; COCCO, M. I. M. Conhecimento Do Cliente Diabético Em Relação Aos Cuidados Com Os Pés * Knowledge About Feet Care Of The Diabetic Client Conocimiento De Los Diabéticos Sobre Los Cuidados Con Los Pies. **Public Health**, v. 36, n. 1, p. 97-103, 2002.

BEN-HAROUSH, A.; YOGEV, Y.; HOD, M. Epidemiology of gestational *Diabetes mellitus* and its association with type 2 diabetes. **Diabetic Med**, v. 21, n. 2, p. 103–113, 2004. Wiley Online Library.

BERG, U.; THALME, B. Early renal functional changes in children with insulin-dependent *Diabetes mellitus*-their relation to metabolic control. **Int J Pediatr Nephrol**, v. 5, p. 15-21, 1984.

BIERHAUS, A.; HUMPERT, P. M.; MORCOS, M.; WENDT, T.; CHAVAKIS, T.; ARNOLD, B.; STERN, D. M.; NAWROTH, P. P. Understanding RAGE, the receptor for advanced glycation end products. **J Mol Med**, v. 83, 2005.

BIESENBACH, G.; ZAZGORNIK, J. Incidence of transientnephrotic syndrome during pregnancy in diabeticwomen with and without pre-existing microalbu-minuria. **BMJ**, v. 299, p. 366-367, 1989.

BJØRNHOLT, J. V.; ERIKSEN, G.; LIESTØL, K.; JERVELL, J.; THAULOW, E.; ERIKSEN, J. Type 2 Diabetes and Maternal Family History. **Blood**, v. 23, n. 9, 2000.

BOER, J.; FESKENS, E. J. M.; SCHOUTEN, E. G.; HAVEKES, L. M.; SEIDELL, J. C.;

KROMHOUT, D. Lipid profiles reflecting high and low risk for coronary heart disease: contribution of apolipoprotein E polymorphism and lifestyle. **Atherosclerosis**, v. 136, n. 2, p. 395–402, 1998.

BONORA, E.; FORMENTINI, G.; CALCATERRA, F. BONADONNA, R.; LOMBARDI, S.; MUGGEO, M.; BONFANTE, N. Plasma glucose levels throughout the day and HbA1C interrelationships in Type 2: Implications for treatment and monitoring of metabolic control. **Diabetes Care**, v. 24, n. 12, p. 2023-2029, 2001.

BOYLE, J. P.; THOMPSON, T. J.; GREGG, E. W.; BARKER, L. E.; WILLIAMSON, D. F. Projection of the year 2050 burden of diabetes in the US adult population: dynamic modeling of incidence, mortality, and prediabetes prevalence. **Popul Health Metrics**, v. 8, n. 1, p. 29, 2011.

BROWN, A. F.; GREGG, E. W.; STEVENS, M. R.; KARTER, A. J.; WEINBERGER, M.; SAFFORD, M. M.; GARY, T. L.; CAPUTO, D. A.; WAITZFELDER, B.; KIM, C.; BECKLES, G. L. Race, ethnicity, socioeconomic position, and quality of care for adults with diabetes enrolled in managed care: the Translating Research Into Action for Diabetes (TRIAD) study. **Diabetes Care**, v. 28, n. 12, p. 2864-2870, 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Assistência a Saúde. Manual de Diabetes. Coordenacao de Doencas Cronico Degenerativas. **Dep. de Assist. e Prom. a Saude**, v. 2, 1993.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Cadernos de Saúde Pública: Diabetes e Hipertensão. **Ministério da Saúde do Brasil**, 2001.

BROWNLEE, M. Advanced protein glycosylation in diabetes and aging. **Annual Review of Med**, 1995.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, v. 414, n. 6865, p. 813 - 820, 2001.

BRY, L.; CHEN, P. C.; SACKS, D. B. Effects of hemoglobin variants and chemically modified derivatives on assays for glycohemoglobin. **Clin Chem**, v. 47, n. 2, p. 153-63, 2001.

BUCHANAN, T. A.; XIANG, A. H.; KJOS, S. L.; WATANABE, R. M. What is gestational diabetes? **Diabetes Care**, v. 30, n. Suppl 2, p. S105-111, 2007.

BUNN, H. F. Nonenzymatic glycosylation of protein: relevance to diabetes. **The American J of Med**, v. 70, n. 2, p. 325-30, 1981.

BUSE, J. B.; FREEMAN, J. L. R.; EDELMAN, S. V.; JOVANOVIC, LOIS; MCGILL, J. B. Serum 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark): a short-term glycemic marker. **Diabetes Technol ; Ther**, v. 5, n. 3, p. 355-63, 2003.

BUTTE, N. F. Carbohydrate and lipid metabolism in pregnancy: normal compared with gestational *Diabetes mellitus*. **The Amer J of Clin Nutrition**, v. 71, n. 5, p. 1256S, 2000.

BUTTERFIELD, W.; KEEN, H.; WHICHELOW, M. Renal glucose threshold variations with age. **Br Med J**, v. 4, p. 505 – 507, 1967.

CALLES-ESCANDON, J.; CIPOLLA, M. Diabetes and endothelial dysfunction: a clinical perspective. **Endocr. Rev**, v. 22, p. 36 – 52 ., 2001.

CANARIS, G. J.; MANOWITZ, N. R.; MAYOR, G.; RIDGWAY, E. C. The Colorado thyroid disease prevalence study. **Arch of Internal Med**, v. 160, n. 4, p. 526-534, 2000.

CASTIEL, L.; COIMBRA J.R.; Cadernos de Saude Publica *Diabetes mellitus* MS. **Cadernos de Saúde Púb / MS, Fund Oswaldo Cruz, Esc Nac de Saúde Publica**. v. 15, p.670-1, 2006.

CEFALU, W. T.; MEJIA, E.; PUENTE, G. R.; FLEISHHACKER, D.; MACAULAY, K. Correlation of serum fructosamine ac- Johnson RN, Metcalf PA, Baker JR: Fructosamine: A new approach to the estimation of serum glycosyl-protein. An index of diabetic control. **Clin Chim Acta**, v. 127, p. 87–95., 1983.

CEFALU, W. T.; PARKE, T. B.; JOHNSON, C. R. Validity of serum fructosamine as index of short-term glycemic control in diabetic outpatients. **Diabetes Care**, v. 11, p. 662–664., 1988.

CEFALU, W. T.; BELL-FARROW, A. D.; PETTY, M.; IZLAR, C.; SMITH, J. Clinical validation of a second-generation fructosamine assay. **Clin Chem** 1, v. 37, p. 1252–1256., 1991.

CEFALU, W. T.; ETTINGER, W. H.; BELL-FARROW, A. D.; RUSHING, J. T. Serum fructosamine as a screening test for diabetes in the elderly: A pilot study. **J Am Geriatr Soc**, v. 41, p. 1090–1094., 1993.

CELANI, M. F.; BONATI, M. E.; STUCCI, N. Prevalence of abnormal thyrotropin concentrations measured by a sensitive assay in patients with type 2 *Diabetes mellitus*. **Diabetes Res**, v. 27, p. 15-25, 1994.

CHRISTENSEN, B. L.; WILLIAMS, M. Assessing postprandial glucose using 1, 5-anhydroglucitol: An integrative literature review. **J of the Amer Acad of Nurse Practitioners**, v. 21, n. 10, p. 542–548, 2009.

COHEN, R. M.; SMITH, E. P.; LECAIRE, T. J.; D’ALESSIO, D. J.; LINDSELL, C. J. Relationship of Prospective GHb to Glycated Serum Proteins in Incident Diabetic Retinopathy — Diabetes Care. **Diabetes Care**, v. 31, n. 1, p. 151-153, 2008.

COLDITZ, GA; WILLETT, W.; ROTNITZKY, A. Weight gain as a risk factor for clinical *Diabetes mellitus* in women. **Annals of Internal**, v. 122, n. 7, p. 481-486, 1995.

CORREA, R. P. “Tabagismo , hipertensão e diabetes - reflexões”, **Minist. Saúde**, v. 29, n. 1, p. 19-24, 2003.

CORRÊA, F. H. S.; GOMES, M. Acompanhamento ambulatorial de gestantes com *Diabetes mellitus* no Hospital Universitário Pedro Ernesto-UERJ. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 48, n. 4, p. 499-504, 2004.

COUSTAN, D. R.; NELSON, C.; CARPENTER, M. W. CARR, S. R.; ROTONDO, L.; WIDNESS, J. A. Maternal age and screening for gestational diabetes: a population- based study. **Obstet Gynecol**, v. 73 N 4, p. 557-561, 1989.

COWIE, C.; RUST, K. Prevalence of Diabetes and High Risk for Population in 1988 – 2006. **Diabetes Care**, v. 33, n. 3, 2006.

COWIE, C. C.; RUST, K. F.; FORD, E. S.; EBERHARDT, M. S.; LI, C.; BYRD-HOLT, D. D.; WILLIAMS, D. E; GREGG, E. W; BAINBRIDGE, K. E.; SAYDAH, S. H.; GEISS, L.S. Full accounting of diabetes and pre-diabetes in the US population in 1988–1994 and 2005–2006. **Diabetes Care**, v. 32, n. 2, p. 287, 2009.

DANAEI, G.; FINUCANE, M. M.; LU, Y. SINGH, G. M.; COWAN, M. J.; PACIOREK, C. J.; LIN, J. K.; FARZADFAR, F.; KHANG, Y.-H.; STEVENS, G. A.; RAO, M.; ALI, M. K.; RILEY, L. M.; ROBINSON, C.; EZZATI, M. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants. **Lancet**, v. 378, n. 9785, p. 31-40, 2011.

DAVISON, J. M.; DUNLOP, W. Renal hemodynamics and tubular function normal human pregnancy. **Kidney Int.**, v. 18, n. 2, p. 152-161, 1980.

DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial. **Kidney Int.**, v. 47, p. 1703-1720, 1995.

DECOEK, N. M. Serum urate and urate clearance in *Diabetes mellitus*. **Australias Ann Med**, v. Aug;14(3), p. 205-209, 1965.

DEN DRIESCHE, A. VAN; EENKHOORN, V.; GAAL, L. VAN; BLOCK, C. DE. Type 1 diabetes and autoimmune polyglandular syndrome: a clinical review. **The Netherlands J of Med**, v. 67, n. 11, p. 376-387, 2009.

DETSCH, J. C. M.; ALMEIDA, A. C. R. DE; BORTOLINI, L. G. C.; NASCIMENTO, D. J.; OLIVEIRA JUNIOR, F. C.; RÉA, R. R. Marcadores para o diagnóstico e tratamento de 924 gestações com diabetes melito gestacional. **Arq Bras Endocrinol e Metabol.** n. 3, 2011.

DÍEZ, J. J.; SÁNCHEZ, P.; IGLESIAS, P. Prevalence of thyroid dysfunction in patients with type 2 diabetes. **Experimental and clinical endocrinology diabetes official journal German Society of Endocrinology and German Diabetes Association**, v. 119, n. 4, p. 201-207, 2011.

DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, VI. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Arq Bras de Cardiologia**, v. 95, n. 1, p. 1-51, 2010.

DIRETRIZES BRASILEIRAS DE HIPERTENSÃO, V. V Diretrizes Brasileiras de hipertensão Arterial da Sociedade Brasileira de Cardiologia. 2009 .

DORNHORST, A.; ROSSI, M. ;Risk and prevention of type 2 diabetes in women with gestational diabetes. **Diabetes Care**, v. 21, p. B43-49., 1998.

DOSI, R. V.; TANDON, N.; A study on prevalence of thyroid auto-immunity in type 1 *Diabetes mellitus*. **J Indian Med Assoc.**, v. Jun; 108(6), p. 349-350, 355-356, 2010.

DUNGAN, K. M.; BUSE, J. B.; LARGAY, J. *et al.*, . 1, 5-anhydroglucitol and postprandial hyperglycemia as measured by continuous glucose monitoring system in moderately controlled patients with diabetes. **Diabetes Care**, v. 29, n. 6, p. 1214, 2006.
DUNGAN, K. 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark) as amarker of short-term glycemic control and glycemicexcursions. **Expert Rev Mol Diagn**, v. 8, p. 9-19, 2008.

DUNTAS, L. H.; ORGIAZZI, J.; BRABANT, G.; The Interface between thyroid and *Diabetes mellitus*. **Clin Endocrinology**, 2011.

DURÁ TRAVÉ, T.; MOYA BENAVENT, M.; CASERO ARIZA, J.; Remission in juvenile *Diabetes mellitus*. **Orvosi Hetilap**, v. 125, n. 5, p. 931-933, 1984.

DWORACKA, M.; WENDER-OZEGOWSKA, E.; WINIARSKA, H.; BOROWSKA, M.; ZAWIEJSKA, A.; PIETRYGA, M.; BRAZERT, J.; SZCZAWINSKA, K. Plasma Anhydro- D - Glucitol (1,5-AG) As An Indicator Of Hyperglycaemic Excursions In Pregnant Women With Diabetes. **Diabetic Medicine**, P. 171-175, 2005.

EIDAM, R.; VOTANO, J. R.; PARHAM, M.; HALL, L. M. L. H.; KIER, L. B. O Processo Pedagógico E A Formação Do Imigrante Alemão Nas Colônias De Bom Jardim Do Sul e Witmarsum (Paraná). **Chem ; Biodiversity**, v. 1, n. 11, p. 1829–1841, 2009.

ENGBAEK, F.; CHRISTENSEN, S. E.; JESPERSEN, B. Enzyme immunoassay of hemoglobin A1c: analytical characteristics and clinical performance for patients with *Diabetes mellitus*, with and without uremia. **Clin Chem**, v. 35, n. 1, p. 93-97, 1989.

ERDBERG, A.; BONER, G.; DYK, D. J. VAN; CAREL, R. Urine uric acid excretion in patients with insulin-dependent *Diabetes mellitus*. **Nephron**, v. 60, n. 2, p. 134-137, 1992.

EVENSEN, A. E. Update on gestational *Diabetes mellitus*. **Prim Care.**, v. 39(1), p. :83-94, 2012.

FEIN, F.; SCHEUER, J. Heart disease in *Diabetes mellitus*: theory and practice. **Diabetes mellitus.**, p. 812-23., 1990.

FERGUSON, M. A.; WAIKAR, S. S. Established and Emerging Markers of Kidney Function. **Clin. Chem**, v. 2, 2012.

FERRARA, A.; KAHN, H. S.; QUESENBERRY, C. P.; RILEY, C.; HEDDERSON, M. M. An increase in the incidence of gestational diabetes mellitus: Northern California, 1991-2000. **Obstet Gynecol**, v. 103, p. 526-533, 2004.

FESTA, A.; D'AGOSTINO, R.; HOWARD, G.; MYKKÄNEN, L.; TRACY, R. P.; HAFFNER, S. M. Inflammation and microalbuminuria in nondiabetic and type 2 diabetic subjects: The Insulin Resistance Atherosclerosis Study. **Kidney International**, v. 58, n. 4, p. 1703-1710, 2000.

FORRESTER, J. S.; MERZ, C. N.; BUSH, T. L.; COHN, J N; HUNNINGHAKE, D. B.; PARTHASARATHY, S.; SUPERKO, H. R. 27th Bethesda Conference: matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events. Task Force 4. Efficacy of risk factor management. **J. of the Amer. College of Cardiology**, v. 27, n. 5, p. 991-1006, 1996.

FRANCISCHI, R. P. P. DE; PEREIRA, L. O.; FREITAS, C. S.; KLOPFER, M.; SANTOS, R. C.; VIEIRA, P. ; RES, A. H.; LANCHÁ JÚNIOR, A. H.; Obesidade : Atualização Sobre Sua Etiol OgiA, morbidade e tratamento. **Rev. Nutr.**, v. 13, n. 1, p. 17-28, 2000.

FRATTALI, A.; WOLF, B. A. 1,5-Anhydroglucitol: a novel serum marker for screening and monitoring *Diabetes mellitus*? **Clin. Chem.**, v. 40, p. 1991-1993., 1994.

FRAYLING, T. M.; COLHOUN, H.; FLOREZ, J. C.; A genetic link between type 2 diabetes and prostate cancer. **Diabetologia**, v. 51, n. 10, p. 1757-60, 2008.

FUKUMURA, Y.; TAJIMA, S.; OSHITANI, S.; USHIJIMA, Y.; KOBAYASHI, I.; HARA, F.; YAMAMOTO, S.; YABUUCHI, M. Fully Enzymatic for Determining in Serum. **Enzyme**, v. 40, n. 11, p. 2013-2016, 1994.

FUKUMURA, Y.; TAJIMA, S.; OSHITANI, S.; USHIJIMA, Y.; KOBAYASHI, I.; HARA, F.; YAMAMOTO, S.; YABUUCHI, M. Enzymatic rate method for measuring cholesterol in serum. **Clinical Chemistry**, v. 40, n. 11 Pt 1, p. 2042-2045, 1994.

GINSBERG, H. N.; insulin resistance Insulin resistance and cardiovascular disease. **J. of Clin. Invest.**, v. 106, n. 4, p. 453-458, 2000.

GOLDENBERG, P.; SCHENKMAN, S.; FRANCO, L. J. Prevalência de *Diabetes mellitus*: diferenças de gênero e igualdade entre os sexos Prevalence of *Diabetes mellitus*: gender differences and sex. **Rev. Bras. de Epidem.**, v. 6, n. 301969, p. 18-28, 2003.

GOLDFINE, A.; BOUCHE, C.; PARKER, R. Insulin resistance is a poor predictor of type 2 diabetes in individuals with no family history of disease. **Proceedings of the**, v. 100, n. 5, p. 2724-9, 2003.

GOLDIN, A.; BECKMAN, J. A.; SCHMIDT, A. M.; CREAGER, M. A. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury. **Circulation**, v. 114, n. 6, p. 597-605, 2006.

GOLDSTEIN, D E; LITTLE, R R; WIEDMEYER, H. M.; ENGLAND, J. D.; MCKENZIE, E. M. Glycated hemoglobin: methodologies and clinical applications. **Clin. Chem.**, v. 32, n. 10 Suppl, p. B64-B70, 1986.

GOLDSTEIN, D. E.; LITTLE, R. R. MONITORING GLYCEMIA Short-Term Assessment. **Endocr. and Metab. Clinics Of North America**, v. 26, n. 3, 1997.

GOLDSTEIN, D. E; LITTLE, R. R; LORENZ, R. A; MALONE, J. I.; NATHAN, D. M.; PETERSON, C. M; SACKS, D. B. Tests of glycemia in diabetes. **Diabetes Care**, v. 27, n. 7, p. 1761-73, 2004.

GOŁEMBIEWSKA, E.; CIECHANOWSKI, K.; SAFRANOW, K.; KEDZIERSKA, K.; KABAT-KOPERSKA, J. Renal handling of uric acid in patients with type 1 diabetes in relation to glycemic control. **Archives of Medical Research**, v. 36, n. 1, p. 32-35, 2005.

GOLIK, A.; WEISSGARTEN, J.; COTARIU, D. COHEN, N.; ZAIDENSTEIN, R.; RAMOT, Y.; AVERBUKH, Z.;MODAI, D. Renal uric acid handling in non-insulin-dependent diabetic patients with elevated glomerular filtration rates. **Clin Science London**, v. 85, n. 6, p. 713-716, 1993.

GOMES, M B; PICCIRILLO, L. J.; NOGUEIRA, V. G.; MATOS, H. J. Acute-phase proteins among patients with type 1 diabetes. **Diabetes Metab**, v. 29, n. 4 Pt 1, p. 405-411, 2003.

GOTFREDSEN, A.; MCNAIR, P.; CHRISTIANSEN, C.; TRANSBØL, I. Protein glycosylation in *Diabetes mellitus*: a review of laboratory measurements and of their clinical utility. **Clin. Chim. Acta**, v. 127, n. 3, p. 147-184, 1982.

GOTOH, M.; LI, C.; YATOH, M.; IGUCHI, A.; HIROOKA, Y. Serum uric acid concentrations in type 2 diabetes: its significant relationship to serum 1,5-anhydroglucitol concentrations. **Endocrine Regulations**, v. 39, n. 4, p. 119-125, 2005.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHELT, A. J.; AZEVEDO, M. J. Diabetes melito: diagnóstico, classificação e avaliação do controle glicêmico. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 46, n. 1, p. 16-26, 2002.

GROSS, J. L.; FERREIRA, S. R. G.; OLIVEIRA, J. E. DE. Glicemia pós Prandial. **Endocrinology And Metab.**, v. 47, 2003.

GROSSI, S. A. A.; CIANCIARULLIO, T. I.; MANNA, T. D.; Avaliação De Dois Esquemas De Monitorização Domiciliar Em Pacientes Com *Diabetes mellitus* Do Tipo 1. **Rev Esc Enferm USP**, v. 36, n. 4, p. 317–23, 2002.

GUERRERO-ROMERO, F. Impaired glucose tolerance is a more advanced stage of alteration in the glucose metabolism than impaired fasting glucose. **J. of Diabetes and its Complic.**, v. 15, n. 1, p. 34-7, 2001.

GÜNGÖR, E. S.; DANIŞMAN, N.; MOLLAMAHMUTO, N. Relationship between serum uric acid, creatinine, albumin and gestational *Diabetes mellitus*. **Clin Chem Lab Med**, v. 44, n. 8, p. 974–977, 2006.

HAMATY, M. Insulin treatment for type 2 diabetes: when to start, which to use. **Cleveland Clinic J. of Med**, v. 78, n. 5, p. 332-42, 2011.

HAY, L. C.; WILMSHURST, E. G.; FULCHER, G. Unrecognized hypo- and hyperglycemia in well-controlled patients with type 2 *Diabetes mellitus*: the results of continuous glucose monitoring. **Diabetes Techn. Therap.**, v. 5, n. 1, p. 19-26, 2003.

HEMPE, J. M.; SOROS, A. A.; CHALEW, S. A. Estimated Average Glucose and Self-Monitored Mean Blood Glucose Are Discordant Estimates of Glycemic Control. **Diabetes Care**, v. 33, n. 7, p. 1449-1451, 2010.

HERMAN, J. B.; KEYNAN, A. Hyperglycemia and uric acid. **Isr J Med Sci**, v. 5(5), p. 1048-1052, 1969.

HERMAN, W.; DUNGAN, K.; WOLFFENBUTTEL, B. Racial and ethnic differences in mean plasma glucose, hemoglobin A1c, and 1,5-anhydroglucitol in over 2000 patients with type 2 diabetes. **J Clin Endocrinol Metab**, v. 94 1689 – , p. 1689 – 1694., 2009.

HIRATA, C. D. R.; HIRATA, M. H. Farmacogenética do tratamento de diabete melito. **English Journal**, v. 39, n. 4, p. 554-561, 2006.

HIRSCH, I, B; BROWNLEE, M. Should minimal blood glucose variability become the gold standard of glycemic control? **The J. of Diabetes and its Comp**, v. 19, n. 3, p. 178-81, 2005.

HISATOME, I.; SASAKI, N.; YAMAKAWA, M. YAMAKAWA, M.; KOBAYASHI, M.; TANAKA, Y.; KOSAKA, H.; YOSHIDA, A.; KOTAKE, H.; MASHIBA, H.; TAKEDA, A Two cases of persistent hypouricemia associated with *Diabetes mellitus*. **Nephron**, 1992.

HOLLOWELL, J. G.; STAEHLING, N. W.; FLANDERS, W. D.; HANNON, W H.; GUNTER, E. W.; SPENCER, C. A.; BRAVERMAN, L. E. Serum TSH, T(4), and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). **The J. of Clin. Endocr. ; Metabolism**, v. 87, n. 2, p. 489-499, 2002.

HOM, F.; ETTINGER, B.; LIN, M. Comparison of serum fructosamine vs glycohemoglobin as measures of glycemic control in a large diabetic population. **Acta Diabetologica**, v. 35, n. 1, p. 48–51, 1998.

HU, F.B.; MANSON, J. A. E.; STAMPFER, M. J. *et al.*, . Diet, lifestyle, and the risk of type 2 *Diabetes mellitus* in women. **New England J. of Medicine**, v. 345, n. 11, p. 790–797, 2001.

HU, F. B.; LI, T. Y.; COLDITZ, G. A.; WILLETT, W. C.; MANSON, J. E. Television watching and other sedentary behaviors in relation to risk of obesity and type 2 *Diabetes mellitus* in women. **Jama**, v. 289, n. 14, p. 1785-1791, 2003.

HUDSON, B. I.; STICKLAND, M. H.; FUTERS, T. S.; GRANT, P. J. Effects of Novel Polymorphisms in the RAGE Gene on Transcriptional Regulation and Their Association With Diabetic Retinopathy. **Vascular**, n. 6, p. 1505-1511, 2001.

HUGHES, P. F.; AGARWAL, M.; NEWMAN, P.; MORRISON, J. An evaluation of fructosamine estimation in screening for gestational *Diabetes mellitus*. **Diabetic Med a J. of the British Diabetic Assoc.**, v. 12, n. 8, p. 708-712, 1995.

HUTER, O.; DREXEL, H.; BREZINKA, C. . Low sensitivity of serum fructosamine as a screening parameter for gestational *Diabetes mellitus*. **Gynecol and Obstetric Investig**, v. 34, n. 1, p. 20-23, 1992.

JANUSZEWSKI, A. S.; KARSCHIMKUS, C.; DAVIS, K. E. R.; O'NEAL, D.; WARD, G.; JENKINS, A. J.; NEAL, D. O. Plasma 1,5 anhydroglucitol levels, a measure of short-term glycaemia: Assay assessment and lower levels in diabetic vs. non-diabetic subjects. **Diabetes Research and Clin. Practice**, v. 95, n. 1, p. e17-9, 2012.

JOHN, W. G. Hemoglobin A1c measurement: new precise immunoassay method involving latex particle agglutination. **Clin. Chem.**, v. 42, n. 11, p. 1874-1875, 1996.

JOHNSON, R. N.; METCALF, P. A.; BAKER, J. R. Fructosamine: A new approach to the estimation of serum glycosyl-protein. An index of diabetic control. **Clin Chim Acta**, v. 127, p. 87-95, 1983.

JOVANOVIĆ, L.; PETERSON, C M. The clinical utility of glycosylated hemoglobin. **The American J. of Med.**, v. 70, n. 2, p. 331-338, 1981.

KALE, S. D.; KULKARNI, S. R.; LUBREE, H. G.; MEENAKUMARI, M.; DESH-PANDE, V. U.; REGE, S. S. Characteristics of gestationaldiabetic mothers and their babies in an Indian diabeticclinic. **J Assoc Physicians India**, v. 53, p. 857-63., 2005.

KAMETANI, S.; HASHIMOTO, Y.; YAMANOUCHI, T.; AKANUMA, Y.; AKANUMA, H. Reduced renal reabsorption of 1,5-anhydro-D-glucitol in diabetic rats and mice. **J. of Biochem.**, v. 102, n. 6, p. 1599-1607, 1987.

KARAVANAKIA, K.; KAKLEASA, K.; PASCHALIB, E.; KEFALASC, N.; KONSTANTOPOULOSA, I.; PETROUC, V.; KANARIOUB, M.; KARAYIANNIA, C. Screening for Associated Autoimmunity in Children and Adolescents with Type 1 *Diabetes mellitus* (T1DM). **Hormone Research**, v. 71, n. 4, p. 201-206, 2009.

KENNEDY, D. M.; JOHNSON, A. B.; HILL, P. G.; A comparison of automated fructosamine and HbA1C methods for monitoring diabetes in pregnancy. **Ann. Clin. Biochem.** 1998.

KHAW, K.-T.; WAREHAM, N. Glycated hemoglobin as a marker of cardiovascular risk. **Current Opin in Lipid**, v. 17, n. 6, p. 637-643, 2006.

KILPATRICK, E.; KEEVIL, B.; RICHMOND, K.; NEWLAND, P.; ADDISON, G. Plasma 1, 5-anhydroglucitol concentrations are influenced by variations in the renal threshold for glucose. **Diabetic Med**, v. 16, n. 6, p. 496-499, 1999.

KIM, C.; NEWTON, K. M.; KNOPP, R. H. Gestational diabetes and the incidence of type 2 diabetes: a systematic review. **Diabetes Care**, v. 25, n. 10, p. 1862-1868, 2002.

KING, HILARYAUBERT, R. E.; HERMAN, WILLIAM H. Prevalence, numerical estimates, and projections. **Diabetes**, v. 21, n. 9, p. 1414-1431, 1998.

KIRK, J. K.; PASSMORE, L. V.; BELL, R. A.; VENKAT NARAYAN, K. M.; D'AGOSTINO, R. B.; ARCURY, T. A.; QUANDT, S. A. Disparities in HbA1C levels between African-American and non-Hispanic white adults with diabetes: a meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 31, n. 2, p. 240-246, 2006.

KOCH, D. Fructosamine: How useful is it? **Lab Med**, v. 21, p. 497-503., 1990.

KOGA, M.; MURAI, J.; SAITO, H.; MUKAI, M.; KASAYAMA, S.; MORIWAKI, Y.; YAMAMOTO, T. Close relationship between serum concentrations of 1,5-anhydroglucitol and uric acid in non-diabetic male subjects implies common renal transport system. **Clinica chimica acta international journal of clinical chemistry**, v. 410, n. 1-2, p. 70-73, 2009.

LACHIN, J. M.; GENUTH, S.; NATHAN, DAVID M; RUTLEDGE, B. N. Comment on: Lachin *et al.*, . (2007) The hemoglobin glycation index is not an independent predictor of the risk of microvascular complications in the diabetes control and complications trial: **Diabetes** 56:1913-1921, 2007. **Diabetes**, 2007.

LERARIO, A. Diabete melitto : aspectos epidemiológicos. **Rev. da Soc. de Cardiologia do Est. de SP**, v. 8, 1998.

LI, S.; HENG, X.; SHENG, H.; WANG, Y.; YU, C. Determination of glycemic monitoring marker 1,5-anhydroglucitol in plasma by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. **J. of Chromatography**, v. 875, n. 2, p. 459-64, 2008.

LU, C.-C.; LAM, H.-C.; CHU, C.-H.; CHAUNG, M.-J.; WANG, M.-C.; LEE, J.-K. 1, 5-anhydroglucitol levels in type 2 diabetic and non-diabetic subjects in Southern Taiwan. **Arq Bras de Endocrinol. e Metab**, v. 47, n. 6, p. 711-715, 2003.

MALERBI, D. A.; FRANCO, L. J. Multicenter Study of the Prevalence of *Diabetes mellitus* and Impaired Glucose Tolerance in the Urban Brazilian Population Aged 30-69 Yr. **Diabetes**, v. 1, n. 1, p. 1509-1516, 1992.

MARTÍN, E. N.; NIETO, V. G. Hypouricemia and tubular transport of uric acid. **Nefrologia (Ver. da Soc. Espanhola de Nefrol.)**, v. 31, n. 1, p. 44-50, 2011.

MATHEUS, A. S.; COBAS, R. A.; GOMES, M.B. Dislipidemias no diabetes melito tipo 1: abordagem atual. **Arq. Bras. de Endocrinol. e Metab**, v. 52, n. 2, p. 334-339, 2008.

MCCANCE, D.; TRAUB, A.; HARLEY, J.; HADDEN, DR; KENNEDY, L. Urinary albumin excretion in diabeticpregnancy. **Diabetologia**, v. 32, p. 236-239, 1989.

MCGILL, J. B.; COLE, T. G.; NOWATZKE, W. Circulating 1, 5-anhydroglucitol levels in adult patients with diabetes reflect longitudinal changes of glycemia. **Diabetes Care**, v. 27, n. 8, p. 1859-1865, 2004.

MEETOO, D. D.; MCALLISTER, G.; WEST, A.; SKYLER, J. S.; Self-monitoring of Blood Glucose. **Internat. Textbook of Diabetes mellitus**, v. 20, n. 15, 1982.

MEGAHED, M.; TAHER, I.; Folate and homocysteine levels in pregnancy. **Br J Biomed Sci**, v. 61, p. 84–87, 2004.

MEHTA, S. N.; SCHWARTZ, N.; WOOD, J. R.; SVOREN, B. M.; LAFFEL, L. M. Evaluation of 1,5-anhydroglucitol, hemoglobin A1c, and glucose levels in youth and young adults with type 1 diabetes and healthy controls. **Pediatr Diabetes**, 2011.

MITCHELL, B. D.; VALDEZ, R.; HAZUDA, H. P.; HAFFNER, S.M.; MONTERROSA, A.; STERN, M. P. Differences in the prevalence of diabetes and impaired glucose tolerance according to maternal or paternal history of diabetes. **Diabetes Care**, v. 16, n. 9, p. 1262, 1993.

MOGENSEN, C. Kidney function and glomerular permeability to macromolecules in early juvenile diabetes. **Scand J Clin Lab Invest**, v. 28, p. 79-90, 1971.

MOGENSEN, C.; CHRISTENSEN, C. Blood pressure changes and renal function in incipient and overt diabetic nephropathy. **Diabetes and Hypertension**, v. 6, p. 11-64-11-73, 1985.

MONTGOMERY, S. M.; EKBOM, A. Smoking during pregnancy and *Diabetes mellitus* in a British longitudinal birth cohort. **BMJ British Medical Journal**, v. 324, n. 7328, p. 26-27, 2002.

MORGAN, J. 1,5 AG: a novel serum marker for screening and Monitoring *Diabetes mellitus*? **J. of Med. Cincinnati**, v. 40, n. 11, p. 1991-1993, 1994.

MORIWAKI, Y.; YAMAMOTO, T.; TAKAHASHI, S.; NASAKO, Y.; HADA, T.; HIGASHINO, K. Renal clearances of purine bases and oxypurinol during glucose infusion. **Advances in Exp. Med. and Biology**, v. 370, p. 39-42, 1994.

MORTENSEN, H. B.; CHRISTOPHERSEN, C. Glucosylation of human haemoglobin in red blood cells studied in vitro. Kinetics of the formation and dissociation of haemoglobin A1c. **Clin. Chim. Acta**, v. 134, n. 3, p. 317-26, 1983.

MURUSSI, M.; MURUSSI, N.; CAMPAGNOLO, N.; SILVEIRO, S. P. Detecção precoce da nefropatia diabética. **Arq. Bras. de Endocrinol. e Metab.**, v. 52, n. 3, p. 442–451, 2008.

NAKA, Y.; BUCCIARELLI, L. G.; WENDT, T.; LEE, L. K.; RONG, L. L.; RAMASAMY, R.; YAN S. F.; SCHMIDT, A. M. Animal models and novel insights into the vascular complications of diabetes. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 24, p. 342-1349, 2004.
NATHAN, D. M. Long-term complications of *Diabetes mellitus*. **N. Engl. J. Med.**, v. 328, n. 23, p. 1676–1685, 1993.

NATHAN, D. M. Thiazolidinediones for initial treatment of type 2 diabetes? **N. Engl. J. Med**, v. 355, p. 2477-2480, 2006.

NATHAN, D M; SINGER, D. E.; HURXTHAL, K.; GOODSON, J. D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. **The New Eng. J. of Med.**, v. 310, n. 6, p. 341-346, 1984.

NATHAN, D. M; BUSE, J. B.; DAVIDSON, M. B.; HEINE, R. J.; HOLMAN, R. R.; SHERWIN, R.; ZINMAN, B. Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement from the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. **Diabetes Care**, v. 29, n. 8, p. 1963-72, 2006.

NATHAN, D. M.; KUENEN, J.; BORG, R.; BORG, R.; ZHENG, H.; SCHOENFELD, D.; HEINE, R. J. Translating the A1C assay into estimated average glucose values. **Diabetes Care**, v. 31, n. 8, p. 1473-1478, 2008.

NEEPER, M.; SCHMIDT, A. M.; BRETT, J.; YAN, S. D.; WANG, F.; PAN, Y.C.E.; ELLISTON, K.; STERN, D.; SHAW, A. Cloning and expression of a cell surface receptor for advanced glycation end products of proteins. **J. Biol. Chem.**, v. 267, p. 14998-15004, 1992.

NGUYEN, T. M.; RODRIGUEZ, L. M.; MASON, K. J.; HEPTULLA, R. A. Serum 1,5-anhydroglucitol (Glycomark) levels in children with and without type 1 *Diabetes mellitus*. **Ped. Diabetes**, v. 8, n. 4, p. 214-219, 2007.

NIKKILÄ, E. A.; HUTTUNEN, J. K.; EHNHOLM, C. Postheparin plasma lipoprotein lipase and hepatic lipase in *Diabetes mellitus*. Relationship to plasma triglyceride metabolism. **Diabetes**, v. 26, n. 1, p. 11-21, 1977.

NOLD, J. L.; GEORGIEFF, M. K. Infants of diabetic mothers. **Ped. Clin. of North America**, v. 51, n. 3, p. 619-37, viii, 2004.

NOWATZKE, W.; SARNO, M. J.; BIRCH, N. C. Evaluation of an assay for serum 1,5-anhydroglucitol (GlycoMark) and determination of reference intervals on the Hitachi 917 analyzer. **Clin. Chim. Acta**, v. 350, n. 1-2, p. 201-9, 2004.

OHKUBO, Y.; KISHIKAWA, H.; ARAKI, E.; MIYATA, T.; ISAMI, S.; MOTOYOSHI, S.; KOJIMAB, Y.; FURUYOSHIB, N.; SHICHIRI, M. Prevents the progression of diabetic microvascular complications in Japanese patients with non-insulin-dependent *Diabetes mellitus*: a randomized prospective 6-year. **Diabetes research and**, v. 28, n. 2, p. 103-17, 1995.

ORCHARD, T.; TEMPROSA, M. The effect of metformin and intensive lifestyle intervention on the metabolic syndrome: the Diabetes Prevention Program randomized trial. **Annals of internal ...**, v. 142, n. 8, p. 611-619, 2005.

OWENS, D.; BARNETT, A. H.; PICKUP, J.; KERR, D.; HICKS, D.; GADSBY, R.; FRIER, B. Blood glucose self-monitoring in type 1 and type 2 diabetes: reaching a multidisciplinary consensus. **Diabetes Prim Care**, v. 6, n.1, p. 1-9, 2004.

OWNBY, H. E.; KONG, F.; WATANABE, K.; TU, Y.; NASS, C. C. Analysis of donor return behavior. **Transfusion**, v. 39, n. October, p. 1128-1135, 1999.

O'SULLIVAN, J. B. *Diabetes mellitus* after GDM. **Diabetes**, v. 40(Suppl 2), p. 131-5., 1991.

PANZRAM, G. Mortality and survival in type 2 (non-insulindependent) *Diabetes mellitus*. **Diabetologia**, v. 30, p. 123-131, 1987.

PERROS, P.; MCCRIMMON, R. J.; SHAW, G.; FRIER, B. M. Frequency of thyroid dysfunction in diabetic patients: value of annual screening. **Diab. Med. J. of the British Diabetic Assoc.**, v. 12, n. 7, p. 622-627, 1995.

PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I.; Etiology of insulin resistance. **The Amer. J. Med.**, v. 119, n. 5 Suppl 1, p. S10-6, 2006.

PETERSON, C.; JOVANOVIĆ, L.; Randomized trial of computer-assisted insulin delivery in patients with type I diabetes beginning pump therapy. **The Amer. J. Med.**, v. 81, n. 1, p. 69-72, 1986.

- PITKÄNEN, E. Serum 1,5-anhydroglucitol in normal subjects and in patients with insulin-dependent *Diabetes mellitus*. **Scandinavian J. Clin. and Lab. Investig.**, v. 42, n. 5, p. 445-448, 1982.
- PITKÄNEN, E.; PUROKOSKI, S.; LAJUNEN, K.; MIETTINEN, U. Identification of 1,5-anhydroglucitol in thin-layer chromatograms. **Scandinavian J. Clin. and Lab. Investig.**, v. 40, n. 1, p. 95-98, 1980.
- PITKÄNEN, E.; PITKÄNEN, O. M. Plasma 1,5-anhydroglucitol in experimental galactosemia in the rat. **Experientia**, v. 46, n. 1, p. 85-87, 1990.
- POWE, C. E.; THADHANI, R. Diabetes and the kidney in pregnancy. **Seminars in Nephrology**, v. 31, n. 1, p. 59-69, 2011.
- PRADHAN, A. D.; RIFAI, N.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. Hemoglobin A1c predicts diabetes but not cardiovascular disease in nondiabetic women. **The Amer. J. of Med.**, v. 120, n. 8, p. 720-7, 2007.
- RADAIDEH, A.-R. M.; NUSIER, M. K.; AMARI, F. L.; BATEIHA, A. E.; EL-KHATEEB, M. S.; NASER, A. S.; AJLOUNI, K. M. Thyroid dysfunction in patients with type 2 *Diabetes mellitus* in Jordan. **Saudi Med. J.**, v. 25, n. 8, p. 1046-1050, 2004.
- RAMOS, A. J. S.; COSTA, A.; BENICIO, A.; RAMOS, A. L. C.; SILVA, C. R. A.; CARVALHO, C. R. Prevalência de doença tireoidiana em pacientes com diabetes tipo 1. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 47, n. 2, p. 177-82, 2003.
- REDDI, A. S.; CAMERINI-DAVALOS, R. A. Diabetic nephropathy. An update. **Arch. of Internal Med.**, v. 150, n. 1, p. 31-43, 1990.
- REICHARD, P.; NILSSON, B.; ROSENQVIST, U. The effect of long-term intensified insulin treatment on the development of microvascular complications of *Diabetes mellitus*. **N. Eng. J. Med.**, 1993.
- RENARD, E. Monitoring glycemic control : the importance of self-monitoring of blood glucose. **The Amer. J. of Med.**, v. 118, n. 9, p. 12-19, 2005.
- RETNAKARAN, R.; ZINMAN, B. Type 1 diabetes, hyperglycaemia, and the heart. **Lancet**, v. 371, p. 1790 – 1799, 2008.
- REYNOLDS, K.; LIESE, A. D.; ANDERSON, A. M.; DABELEA, D.; STANDIFORD, D.; DANIELS, S. R.; WAITZFELDER, B.; CASE, D.; LOOTS, B.; IMPERATORE, G.; LAWRENCE, J. Prevalence of tobacco use and association between cardiometabolic risk factors and cigarette smoking in youth with type 1 or type 2 *Diabetes mellitus*. **The J. of Ped.**, v. 158, n. 4, p. 594-601.e1, 2011.
- ROBERTSON, D. A.; ALBERTI, K. G.; DOWSE, K. G.; ZIMMET, P.; TUOMILEHTO, J.; GAREEBOO, H. Is serum anhydroglucitol an alternative to the oral glucose tolerance test for diabetes screening? The Mauritius Noncommunicable Diseases Study Group. **Diabet Med.**, v. 10, p. 56-60, 1993.
- ROOHK, H. V.; ZAIDI, A. R. A review of glycated albumin as an intermediate glycation index for controlling diabetes. **J. of Diabetes Science and Tech.**, v. 2, n. 6, p. 1114-1121, 2008.
- ROSENSTOCK, J. insulin therapy: optimizing control in type 1 and type 2 diabetes. **Clin Cornerstone.**, v. 4(2), p. 50-64., 2001.

RUBINOW, K. B.; HIRSCH, I.B. Metrics for Monitoring Glycemic Control—Reply. **JAMA: The J. of the Amer. Medical Assoc.**, v. 305, n. 24, p. 2522, 2011.

SAADDINE, J. B.; FAGOT-CAMPAGNA, A.; ROLKA, D.; VENKAT NARAYAN, K. M.; GEISS, L.; EBERHARDT, M.; FLEGAL, K. M. Distribution of HbA(1c) levels for children and young adults in the U.S.: Third National Health and Nutrition Examination Survey. **Diabetes Care**, v. 25, n. 8, p. 1326-1330, 2002.

SACKS, D. B.; BRUNS, D. E.; GOLDSTEIN, D. E.; MACLAREN, N. K.; Mc-DONALD, J. M.; PARROTT, M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of *Diabetes mellitus*. **Clin. Chem**, v. 48, p. 436–472, 2002.

SACKS, D. B.; ARNOLD, M.; BAKRIS, G. L.; BRUNS, D. E.; HORVATH, A. R.; KIRKMAN, M. S.; LERNMARK, A.; METZGER, B.; NATHAN, D. M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of *Diabetes mellitus*. **Clin. Chem.**, v. 57, n. 6, p. e1-e47, 2011.

SACKS, D. B.; FONSECA, V.; GOLDFINE, A. B. Diabetes: advances and controversies. **Clin. Chem.**, v. 57, n. 2, p. 147-9, 2011.

SAKURAI, S.; YONEKURA, H.; YAMAMOTO, Y.; WATANABE, T.; YAMAMOTO, H. The AGE-RAGE system and diabetic nephropathy. **J. Am. Soc. Nephrol**, v. 14, n. supl 3, p. S259-S263, 2003.

SANDAHL-CHRISTIANSEN, J.; CHRISTENSEN, C.; HERMANSEN, K.; PEDERSEN, E.; MOGENSE, N C. Enhancement of glomerular filtration rate and renal plasma flow by oral glucose load in well controlled insulin-dependent diabetics. **Scand J Clin Lab Invest**, v. 46, p. 265-72, 1986.

SANTOS, I. C. R.; FRIGERI, H. R.; RÉA, R. R. ALMEIDA, A. C. R.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; FADEL-PICHETH, C. M. T.; PICHETH, G. The glucokinase gene promoter polymorphism -30G>A (rs1799884) is associated with fasting glucose in healthy pregnant women but not with gestational diabetes. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, v. 411, n. 11-12, p. 892-3, 2010.

SARTORELLI, D. S.; FRANCO, L.J. Tendências do *Diabetes mellitus* no Brasil: o papel da transição nutricional. **Cad Saúde Pública**, v. 19, n. 1, p. 29–36, 2003.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2006. **Diabetes**, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2007. **Diabetes**, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2008. **Diabetes**, 2008.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2009. **Diabetes**, 2009.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA. Projeto Diretrizes *Diabetes mellitus*: Insulinoterapia Projeto Diretrizes. **Diabetes**, p. 1-8, 2005.

SCHAAN, B.; HARZHEIM, E.; GUS, I. Perfil de risco cardíaco no *Diabetes mellitus* e na glicemia de jejum alterada. **Rev. de Saúde Públ.**, v. 38, n. 4, p. 529–536, 2004.

SCHLEICHER, E. D.; VOGT, B. W. Standardization of serum fructosamine assays. **Clin. Chem.**, v. 36, n. 1, p. 136-139, 1990.

SCHMIDT, A. M.; VIANNA, M.; GERALD, M.; BRETT, J.; RYAN, J.; KAO, J.; ESPOSITO, C.; HEGARTY, H.; HURLEY, W.; CLAUSS, M. J.. Isolation and characterization of two binding proteins for advanced glycosylation end products from bovine lung which are present on the endothelial cell surface. **Biol. Chem.**, v. 267, p. 14987-4997, 1992.

SEGHIERI, G.; BRESCHI, M. C.; ANICHINI, R.; DE BELLIS, A.; ALVIGGI, L.; MAIDA, I.; FRANCONI, F. Serum homocysteine levels are increased in women with gestational *Diabetes mellitus*. **Metabolism**, v. 52, p. 720–723., 2003.

SERVICE, F. J.; O'BRIEN, P. C.; RIZZA, R. A. Measurements of glucose control. **Diabetes Care**, v. 10, n. 2, p. 225-237, 1987.

SERVO, C.; PITKÄNEN, E. Variation in polyol levels in cerebrospinal fluid and serum in diabetic patients. **Diabetologia**, v. 11, n. 6, p. 575-580, 1975.

SHAH, B. D.; COHEN, A. W.; MAY, C.; GABBE, S. G. Comparison of glycohemoglobin determination and the one-hour oral glucose screen in the identification of gestational diabetes. **Amer. J. of Obstet. and Gynecol.**, v. 144, n. 7, p. 774-777, 1982.

SHAW, J. E.; SICREE, R. A; ZIMMET, P. Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. **Diabetes Research and Clin. Practice**, v. 87, n. 1, p. 4-14, 2011.

SHEETZ, M. J.; KING, G. L. Molecular understanding of hyperglycemia's adverse effects for diabetic complications. **JAMA: The Journal of the American Medical**, v. 288, n. 20, p. 2579-88, 2002.

SHICHIRI, M; IWAMOTO, H.; SHIIGAI, T. Diabetic renal hypouricemia. **Arch. of Internal Med.**, 1987.

SINGER, D. E.; COLEY, C. M.; SAMET, J. H.; NATHAN, D M. Tests of glycemia in *Diabetes mellitus*. Their use in establishing a diagnosis and in treatment. **Annals of Internal Med.**, v. 110, n. 2, p. 125-137, 1989.

SOLOMON, C. G.; WILLETT, W. C.; CAREY, V. J.; RICH-EDWARDS, J.; HUNSOLOMON, C. G.; RICH-EDWARDS, J.; HUNTER, D. J.; COLDITZ, G. A.; STAMPFER, M. J.; SPEIZER, F. E.; SPIEGELMAN, D.; MANSON, J. ETER, D. J. A prospective study of pregravid determinants of gestational *Diabetes mellitus*. **JAMA**, v. 278, p. 1078-1083, 1997.

SOUZA, O. L. R.; DIEHL, L. A.; GARCIA, L. D. C. J. V.; CARRILHO, A. J. F.; ALMEIDA, M. L. DE O. H. G. G. DE. Prevalência de Auto-Imunidade Tireoidiana em Um Grupo de Pacientes Com *Diabetes mellitus* Tipo 1 em Londrina, PR. **Endocrinol. And Metab.**, v. 49, 2005.

SPOSITO, A. C.; CARAMELLI, B.; M, F. A. H. F.; BERTOLAMI, M. C. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose: Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. de Cardiologia**, v. 88, p. 2–19, 2007.

STEPHEN, L. F.; KIRKLAND, J.; ROSS, D. S.; HOPPIN, A. Acquired hypothyroidism in childhood and adolescent. ,2011.

STERN, D.; YAN, S. D.; SCHMIDT, ANNE MARIE. Receptor for advanced glycation end products (RAGE) and the complications of diabetes. **Ageing Res. Rev.**, v. 1, p. 1-15, 2002.

STRATTON, I. M.; ADLER, A. I.; NEIL, A. W.; MATTHEWS, D.R.; MANLEY, E. S.; CULL, C. A.; HADDEN, D.; TURNER, R. C.; HOLMAN, R. R. Association of glycaemia with macrovascular and prospective observational study. **BMJ** . UKPDS -UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY 35, p. 405-412, 2000.

SUGAYA, K.; FUKAGAWA, T.; MATSUMOTO, K.; MITA, K. genes in the human MHC class III region near the junction with the class II: gene for receptor of advanced glycosylation end products, PBX2 homeobox. **Genomics**, 1994.

SUMITA, N. M.; ANDRIOLO, A. Importância da hemoglobina glicada no controle do *Diabetes mellitus* e na avaliação de risco das complicações crônicas. **J Bras Patol Med Lab**, v. 44, n. 3, p. 169–174, 2008.

SYED, U.; KHADKA, N.; KHAN, A.; WALL, S. Care-seeking practices in South Asia: using formative research to design program interventions to save newborn livesCare-seeking practices in South Asia. **J. of Perinatology**, v. 28, p. S9-S13, 2008.

TAHARA, Y.; SHIMA, K. Kinetics of HbA1C , glycated albumin, and fructosamine and analysis of their weight functions against preceding plasma glucose level. **Diabetes Care**, v. 18, p. 440–447, 1995.

TAJIMA, S.; HASHIBA, M.; SUZUKI, T.; AKANUMA, HIROSHI; YABUUCHI, M. High performance liquid chromatographic determination of 1,5-anhydroglucitol in human plasma for diagnosis of *Diabetes mellitus*. **Biom. Chromatography BMC**, v. 7, n. 2, p. 41-44, 1993.

TAM, W. H.; ROGERS, M. S.; LAU, T. K.; ARUMANAYAGAM, M. The predictive value of serum 1, 5-anhydro-D-glucitol in pregnancies at increased risk of gestational *Diabetes mellitus* and gestational impaired glucose tolerance. **BJOG: Intern. J. of Obstet. ; Gynecol.**, v. 108, n. 7, p. 754–756, 2001.

TANABE, T.; UMEGAE, Y.; KOYASHIKI, T. et al. Fully Automated Flow_injection System for Quantifying 1,5 AG in Serum. , v. 40, n. 11, p. 2006-2012, 1994.

TETSUO, M.; HAMADA, T.; YOSHIMATSU, K.; ISHIMATSU, J.; MATSUNAGA, T. Serum levels of 1,5-anhydro-D-glucitol during the normal and diabetic pregnancy and puerperium. **Acta Obstet. et Gynecol. Scandinavica**, v. 69, n. 6, p. 479-485, 1990.

TOESCU, V.; NUTTALL, S. L.; MARTIN, U.; NIGHTINGALE, P.; KENDALL, M. J.; BRYDON, P.; DUNNE, F. Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated by diabetes. **Clinical Science**, v. 106, n. 1, p. 93–98, 2004.

TORLONI, M. R.; BETRÁN, A. P.; HORTA, B. L.; NAKAMURA, M. U.; ATALLAH, A. N.; MORON, A. F.; VALENTE, O. Prepregnancy BMI and the risk of gestational diabetes: a systematic review of the literature with meta-analysis. **Obes. Rev**, v. 10, p. 194-203, 2009.

TSUKUI, S.; FUKUMURA, Y.; KOBAYASHI, I. Decreased serum 1,5-anhydroglucitol in nondiabetic subjects with a family history of NIDDM. **Diabetes Care**, v. 19, n. 9, p. 940-944, 1996.

TSUKUI, S.; FUKUMURA, Y.; KOBAYASHI, I. Nondiabetic Subjects With a Family History of NIDDM. **Diabetes**, v. 19, n. 9, 1996.

TUNBRIDGE, W. M.; EVERED, D. C.; HALL, R.; APPLETON, D.; BREWIS, M.; CLARK, F.; EVANS, J. G.; YOUNG, E. BIRD, T. SMITH, P. A. The spectrum of thyroid disease in a community: the Whickham survey. **Clin. Endocrinol.**, v. 7, n. 6, p. 481-93, 1977.

TUOMILEHTO, J. A glucose tolerance test is important for clinical practice. **Diabetes care**, v. 25, n. 10, p. 1880-2, 2002.

UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes. **Lancet**, v. 74, p. 837–853, 1998a.

UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes. UK Prospective Diabetes Study (UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY 34) Group. **Lancet**, v. 352, n. 9131, p. 854-65, 1998b.

UMEDA, F.; YAMAUCHI, T.; ISHII, H. *et al.*, . Serum 1,5-anhydro-D-glucitol and glycemic control in patients with non-insulin-dependent *Diabetes mellitus*. **J Exp Med.**, v. 163, p. :93-100, 1991.

VANDERPUMP, M. P.; TUNBRIDGE, W. M.; FRENCH, J. M.; APPLETON, D.; BATES, D.; CLARK, F.; GRIMLEY EVANS, J.; HASAN, D. M.; RODGERS, H.; TUNBRIDGE, F. The incidence of thyroid disorders in the community: a twenty-year follow-up of the Whickham Survey. **Clinical Endocrinology**, v. 43, n. 1, p. 55-68, 1995.

VAZZANA, N.; SANTILLI, F.; CUCCURULLO, C.; DAVÌ, G. Soluble forms of RAGE in internal medicine. **Internal And Emerg. Med.**, v. 4, n. 5, p. 389-401, 2009.

VECIANA, M. DE; MAJOR, C. A.; MORGAN, M. A.; ASRAT, T.; TOOHEY, J.S.; LIEN, J.M.; EVANS, A.T. Postprandial versus preprandial blood glucose monitoring in women with gestational *Diabetes mellitus* requiring insulin therapy. **N. Eng. J. of Med.**, v. 333, n. 19, p. 1237–1241, 1995.

VIBERTI, G.; LACHIN, J.; HOLMAN, R.; ZINMAN, B.; HAFFNER, S.; KRAVITZ, B.; HEISE, M. A.; JONES, N. P.; O'NEILL, M. C.; FREED, M. I.; KAHN, S. E.; HERMAN, W. H. A. Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT): baseline characteristics of Type 2 diabetic patients in North America and Europe. **Diabetic Med. a J. of the British Diabetic Assoc.**, v. 23, n. 12, p. 1289-1294, 2006.

VITART, V.; RUDAN, I.; HAYWARD, C., GRAY, N. K.; FLOYD, J.; PALMER, C. N. A.; KNOTT, S. A.; KOLCIC, I.; POLASEK, O.; GRAESSLER, J.; WILSON, J. F.; MARINAKI, A.; RICHES, P. L.; SHU, X.; JANICIJEVIC, B.; SMOLEJ-NARANCIC, N.; GORGONI, B.; MORGAN, J.; CAMPBELL, S.; BILOGLAV, Z.; BARAC-LAUC, L.; PERICIC, M.; KLARIC, I. M.; ZGAGA, L.; SKARIC-JURIC, T.; WILD, S. H.; RICHARDSON, W. A.; HOHENSTEIN, P.; KIMBER, C. H.; TENESA, A.; DONNELLY, L. A.; FAIRBANKS, L.; ARINGER, M.; MCKEIGUE, P. M.; RALSTON, S. H.; MORRIS, A. D.; RUDAN, P.; HASTIE, N.; CAMPBELL, H.; WRIGHT, A. SLC2A9 is a newly identified urate transporter influencing serum urate concentration, urate excretion and gout. **Nature Genetics**, v. 40, n. 4, p. 437-442, 2008.

VLASSARA, H.; BUCALA, R.; STRIKER. Pathogenic effects of advanced glycosylation: biochemical, biologic, and clinical implications for diabetes and aging. **Lab. Invest.**, v. 70, p. 138-151, 1995.

WARREN, R. E.; PERROS, PETROS; NYIRENDA, M. J.; FRIER, BRIAN M. Serum thyrotropin is a better predictor of future thyroid dysfunction than thyroid autoantibody status in biochemically euthyroid patients with diabetes: implications for screening. **Thyroid Offic. J. of the Amer. Thyroid Assoc.**, v. 14, n. 10, p. 853-857, 2004.

WAUTIER, J-L. AND SCHMIDT, A. M. Protein glycation. A firm link to endothelial cell dysfunction. **Circ. Res.**, v. 95, p. 233-238, 2004.

World Health Organization, 2009.

World Health Organization, 2011.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A.; SICREE, R.; KING, H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v. 27, n. n. 5, p. 1047-1053, 2004.

WILLIAM, H. H.; MA, Y.; UWAIFO, G.; HAFFNER, S.; KAHN, S. E.; HORTON, E. S.; LACHIN, J. M.; MONTEZ, M. G.; BRENNEMAN, T.; BARRETT-CONNOR, E. Differences in A1C by race and ethnicity among patients with impaired glucose tolerance in the Diabetes Prevention Program. **Diabetes Care**, v. 30, n. 10, p. 2453-2457, 2007. Department of Internal Medicine and Epidemiology, University of Michigan Health System, Ann Arbor, Michigan, USA.

WINDELER, J.; KÖBBERLING, J. The fructosamine assay in diagnosis and control of *Diabetes mellitus* scientific evidence for its clinical usefulness? **J. of Clin. Chem. and Clin. Biochem.**, v. 28, n. 3, p. 129-138, 1990.

WISEMAN, M.; VIBERTI, G.; MACKINTOSH, D.; JARRETT, R. J.; KEEN, H. Glycaemia, arterial pressure and micro-albuminuria in Type 1 (insulin-dependent) *Diabetes mellitus*. **Diabetologia**, v. 26, p. 401-405, 1984.

YAMADA H, HISHIDA A, KATO A, Y. T. 1,5-anhydroglucitol as a marker for the differential diagnosis of acute and chronic renal failure. **Nephron**, v. 73(4), p. 707-9, 1996.

YAMAGUSHI, S.; NAKAMURA, K.; MATSUI, T.; NODA, Y. AND; IMAIZUMI, T. Receptor for advanced glycation end products (RAGE): a novel therapeutic target for diabetic vascular complication. **Curr. Pharm. Des**, v. 14, p. 487-495, 2008.

YAMANOUCHI, T. Reduced Renal of 1,5-Anhydro-D-Glucitol in Diabetic Rats and Mice. **J Biochem**, v. 102, n. 6, p. 1599-1607, 1987.

YAMANOUCHI, T. Plasma 1,5-anhydro-d-glucitol as new clinical marker of glycemic control in NIDDM patients. **Diabetes**, v. 38, p. 723-729, 1989.

YAMANOUCHI, T.; AKANUMA, H; TAKAKU, F.; AKANUMA, Y. Marked depletion of plasma 1,5-anhydroglucitol, a major polyol, in streptozocin-induced diabetes in rats and the effect of insulin treatment. **Diabetes**, v. 35, n. 2, p. 204-209, 1986.

YAMANOUCHI, T.; AKANUMA, H; NAKAMURA, T.; AKAOKA, I.; AKANUMA, Y. Reduction of plasma 1,5-anhydroglucitol (1-deoxyglucose) concentration in diabetic patients. **Diabetologia**, v. 31, n. 1, p. 41-45, 1988.

YAMANOUCHI, T.; AKAOKA, I.; AKANUMA, Y. New diagnostic tests for *Diabetes mellitus*. 1,5-anhydroglucitol. **Nippon Rinsho**, v. 47, n. 11, p. 2472-2476, 1989.

YAMANOUCHI, T.; MINODA, S.; YABUUCHI, M. AKANUMA, Y.; AKANUMA, H.; MIYASHITA, H. Plasma 1,5-anhydro-D-glucitol as new clinical marker of glycemic control in NIDDM patients. **Diabetes**, v. 38, p. 723–729., 1989.

YAMANOUCHI, T.; AKAOKA, I. Clinical significance of plasma 1,5-anhydroglucitol analysis in the diagnosis of *Diabetes mellitus*. **Nippon Rinsho**, v. 48 Suppl, p. 374-380, 1990.

YAMANOUCHI, T.; AKANUMA, Y.; TOYOTA, T.; KUZUYA, T.; KAWAI, T.; KAWAZU, S.; YOSHIOKA, S.; KANAZAWA, Y.; OHTA, M.; BABA, S. Comparison of 1,5-anhydroglucitol, HbA1C, and fructosamine for detection of *Diabetes mellitus*. **Diabetes**. 1991.

YAMANOUCHI, T.; MOROMIZATO, H.; SHINOHARA, T.; MINODA, S.; MIYASHITA, H.; AKAOKA, I. Estimation of plasma glucose fluctuation with a combination test of hemoglobin A1c and 1,5-anhydroglucitol. **Metabolism**, v. 41, n. b, p. 862-867, 1992.

YAMANOUCHI, T.; TACHIBANA, Y.; AKANUMA, HIROSHI; MINODA, S.; SHINOHARA, T.; MOROMIZATO, H.; MIYASHITA, H.; AKAOKA, I. Origin and disposal of 1,5-anhydroglucitol, a major polyol in the human body. **Am. J. Physiol.**, v. 263, n. a, p. E268–E273, 1992.

YAMANOUCHI, T.; OGATA, N.; TAGAYA, T.; KAWASAKI, T.; SEKINO, N.; FUNATO, H.; AKAOKA, I.; MIYASHITA, H. Clinical usefulness of serum 1, 5-anhydroglucitol in monitoring glycaemic control. **The Lancet**, v. 347, n. 9014, p. 1514–1518, 1996.

YANG, Y.; HABEL, L.; CAPRA, A. Serial glycosylated hemoglobin levels and risk of colorectal neoplasia among patients with type 2 diabetes mellitus. ... **Biomarkers & Prevention**, , n. 1, p. 1-17, 2010.

YONEKURA, H.; YAMAMOTO, Y.; SAKURAI, S.; WATANABE, T. AND; YAMAMOTO, H; Roles of the Receptor for Advanced Glycation Endproducts in Diabetes-Induced Vascular Injury. **J. Pharmacol. Sci.**, v. 97, p. 305-311, 2005.

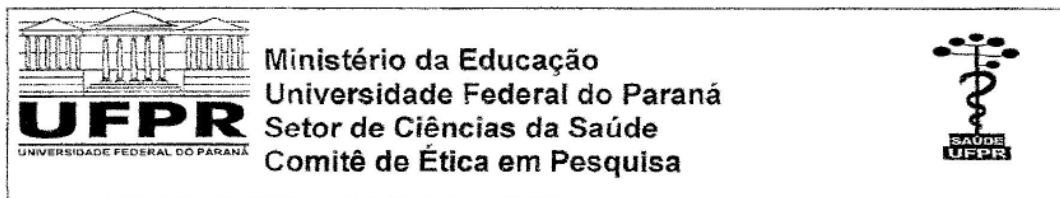
YOO, T. W.; SUNG, K. C.; SHIN, H. S.; Kim, B. J.; Kim, B. S.; Kang, J. H.; Lee, M. H.; Park, Jung R.; Kim, H.; Rhee, E. J.; Lee, W. Y.; Kim, S. W. Ryu, S. H.; Keum, D. G. Relationship between serum uric acid concentration and insulin resistance and metabolic syndrome. **J. Offic. of the Japanese Circ. Society**, v. 69, n. 8, p. 928-933, 2005.

YOSHIOKA, SHIGETAKE; SAITOH, S.; NEGISHI, C.; FUJISAWA, T.; FUJIMORI, A.; TAKATANI, O.; IMURA, M.; FUNABASHI, M. Variations of 1-deoxyglucose(1,5-anhydroglucitol) content in plasma from patients with insulin-dependent *Diabetes mellitus*. **Clin. Chem.**, v. 29, n. 7, p. 1396-1398, 1983.

ZAMORA-GINEZ, I.; PÉREZ-FUENTES, R.; BAEZ-DUARTE, B. G.; REVILLA-MONSALVE, C.; BRAMBILA, E. Risk factors for diabetes, but not for cardiovascular disease, are associated with family history of Type 2 diabetes in subjects from central Mexico. **Annals of Hum. Biology**, v. 39, n. 2, p. 102-107, 2012.

ANEXOS

ANEXO I



Curitiba, 01 de fevereiro de 2011

Ilmo (a) Sr. (a)
Kátia Cristina Boritza
Geraldo Pichet

Nesta

Prezado(a) Pesquisador(a),

Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **“Estudo do biomarcador 1,5 anidroglicitol e variabilidade genética associada ao controle glicêmico em pacientes com diabetes mellitus”** está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução CNS 196/96, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR, em reunião realizada no dia 01 de dezembro de 2010 e apresentou pendência(s). Pendência(s) apresentada(s), documento(s) analisado(s) e projeto aprovado em 01 de fevereiro de 2011.

Registro CEP/SD: 1047.172.10.11

CAAE: 5881.0.000.091-10

Conforme a Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

Data para entrega do relatório final ou parcial: 01/08/2011.

Atenciosamente



Prof.ª. Dr.ª. Ida Cristina Gubert

Vice-Coordenadora do Comitê de Ética em
Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde

ANEXO III

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – HC – UFPR

- a) Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado “Estudo do biomarcador 1,5 anidroglicitol e variabilidade genética associada ao controle glicêmico em pacientes com *Diabetes mellitus*”. É através das pesquisas que ocorrem os avanços na medicina e sua participação é de fundamental importância.
- b) O objetivo desta pesquisa é procurar novos exames para melhor controlar e monitorar o paciente com *Diabetes mellitus* e ainda conhecer as origens genéticas desses pacientes e suas correlações com os parâmetros estudados.
- c) Caso você participe desta pesquisa, será necessário coletar uma amostra de sangue. Dados pessoais (biométricos, como idade, peso, altura) e dados sobre resultados de exames (exames de sangue, histórico clínico) serão repassados para o pesquisador pelo seu médico. A coleta de sangue será realizada na **Unidade de Endocrinologia Diabética do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná - (Rua General Carneiro, 181, Curitiba-PR)**.
- d) O sangue será coletado durante o procedimento de coleta de rotina do serviço acima citado, sem necessidade de coleta específica para a pesquisa.
- f) Os benefícios esperados são: 1) melhor conhecimento de doenças que atingem muitos indivíduos como o *Diabetes mellitus* tipos 1, 2 e gestacional. 2) Expectativa do desenvolvimento de novos ensaios laboratoriais que permitam um melhor diagnóstico e acompanhamento sobre as doenças citadas anteriormente. 3) Novas associações genéticas para o controle glicêmico.
- g) Eu, Kátia Cristina Boritza, Farmacêutica-Bioquímica, funcionária do Laboratório de Imunoquímica do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná e responsável por esta pesquisa, poderei ser contatado nos telefones: (41)-3360-7972, (41)-3257-9963 ou (41)-9952-3654 em horário comercial, sendo das 8 às 12hs e das 14 às 18 hs, conforme consta no padrão ético e vigente no Brasil.
- h) Estão garantidas todas as informações que você queira, antes e depois do estudo.
- i) A sua participação neste estudo é **voluntária**. Você tem a liberdade de recusar participar do estudo, ou se aceitar participar, retirar seu consentimento a qualquer momento. Este fato não implicará na interrupção do seu tratamento ou na atenção recebida do seu médico.
- j) As informações relacionadas a esta pesquisa poderão ser inspecionadas pelos responsáveis pela pesquisa e pelas autoridades legais, no entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito de forma codificada, para que a confidencialidade seja mantida (não aparecerá seu nome em hipótese nenhuma, e sim um código de identificação).
- k) Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa (exames, medicamentos, etc) **não** serão de responsabilidade do paciente.
- l) Pela sua participação no estudo, você **não** receberá qualquer valor em dinheiro.
- m) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.
- n) Cópias dos resultados da pesquisa serão distribuídas aos médicos que encaminharem pacientes para a pesquisa.
- Eu, _____

 confirmo que li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona riscos e benefícios do estudo. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação na pesquisa a qualquer momento sem justificar minha decisão e sem que minha decisão afete meu tratamento ou o meu relacionamento com meu médico. Eu entendi que não haverá qualquer custo para mim.
 Eu concordo voluntariamente a participar deste estudo.

_____ data: ____/____/____
 Assinatura do paciente ou responsável legal

_____ data: ____/____/____
 Assinatura do pesquisador

Anexo IV.

Programa para o analisador automático Cobas mira (Roche) para determinação de 1,5AG com reagente GlycoMark Inc.

General	Original Fabricante	Modificado*
Measurement modo	ABSORB	ABSORB
Reaction mode	R-S-SR1 (3)	R-S-SR1 (3)
Calibration mode	SLOP AVG (2)	SLOP AVG (2)
Reagent blank	REAG/DIL (2)	REAG/DIL (2)
Wavelength	550 nm (4)	550 nm (4)
Decimal position	1	1
Unit	µg/dL (16)	µg/dL (16)
Analysis		
Post Dil. Factor	NO	NO
Conc. Factor	NO	NO
Sample	Cycle 1	Cycle 1
Volume	6 µL	4 µL
Diluent name	H2O	H2O
Volume	10 µL	10 µL
Reagent	Cycle 1	Cycle 1
Volume	180 µL	120 µL
Start R1	Cycle 11	Cycle 11
Volume	90 µL	60 µL
Diluent name	H2O	H2O
Volume	5 µL	5 µL
Calculation		
Sample limit	NO	NO
Point	-	-
Reac. Direction	INCREASE	INCREASE
Check	OFF	ON
Convers. fator	1.0000	1.0000
Offset	0.0000	0.0000
Teste range low	NO	NO
High	NO	NO
Norm. range low	NO	NO
High	NO	NO
Number of steps	1	1
Calc. step A	ENDPOINT (1)	ENDPOINT (1)
Reading first	10	10
Last	23	23
Reaction limit	NO	NO
Point	-	-
Calibration		
Calib. Interval	EACH DAY (2)	ON REQUEST (1)
Time	1 days	1 days
Blank		
Reag. range low	NO	NO
High	NO	NO
Blank rang low	NO	NO
High	NO	NO
Standard Pos	*	1
STD-1	50 (µg/mL)	50 (µg/mL)
STD-2	NO	NO
STD-3	NO	NO
Replicate	Dupl (2)	Single (1)
Deviation	10%	10%
Control		
CS1 POS	NO	NO
CS2 POS	NO	NO
CS2 POS	NO	NO

*modificação na programação destacadas em negrito.